

THESIS

TÜBINGEN

1967

Aus der Kinderklinik der Universität Tübingen

Ehem. Direktor: Professor Dr. med. K. Betke

Vergleichende Untersuchungen über die Methämoglobin-
reduktion in Nabelschnur - und Erwachsenenerythrocyten
in Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
DIETER ORYWALL
aus Schwelm

9103

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA

Aus der Kinderklinik der Universität Tübingen
Ehem.Direktor: Professor Dr.med. K. Betke

Vergleichende Untersuchungen über die Methämoglobinreduktion
in Nabelschnur- und Erwachsenenerythrocyten in Abhängigkeit
von der Wasserstoffionenkonzentration

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Dieter O r y w a l l
aus Schwelm

1967

Dekan: Professor Dr. F. Lembeck

1. Berichterstatter: Privatdozent Dr. E. Kleihauer

2. Berichterstatter: Professor Dr. H. D. Waller

Meinem Vater

in Dankbarkeit gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. EINLEITUNG	
I. Die Fähigkeit roter Blutzellen Methämoglobin zurückzubilden	1
II. Der Fermentmechanismus der Methämoglobinerückbildung	2
III. Das besondere Verhalten von Nabelschnur- blut bei der Methämoglobinerückbildung	4
IV. Eigene Fragestellung	5
B. METHODIK	
I. Untersuchungsgut	6
II. Untersuchungstechnik	6
1. Herstellung methämoglobin- haltiger Erythrocyten	6
2. Bestimmung der Hämoglobin- konzentration	7
3. Verdünnung und Einstellung der Hämoglobinkonzentration	8
4. Bestimmung der H.-Jonen- Konzentration	8
5. Substratzusätze	8
6. Versuchsanordnung	9
7. Methämoglobinbestimmung	10
C. VERSUCHSERGEBNISSE	
I. Vorversuche	
1. Einfluß des pH auf die Methämoglobinreduktion	13

	Seite
2. Die Einwirkung unterschiedlicher Verdünnungslösungen	14
3. Verwendung von Gasgemischen sowie Stickstoff und Sauerstoff	15
4. Heparinzusatz und mechanische Defibrinierung	16
5. Beeinflussung des pH durch Waschen der Erythrocyten mit verschiedenen Puffern	17
6. Abbildungen und Tabellen zu den Vorversuchen	20
II. Vergleichende Untersuchung über die Methämoglobinreduktion in Nabelschnur- und Erwachsenenerythrocyten	
1. Reduktion mit Glucose als Substrat	29
a) Gesamtergebnisse	29
b) bei annähernd gleichen pH-Werten	30
c) Beziehungen zwischen dem pH und der Reduktionsleistung	31
2. Reduktion mit Lactat als Substrat	32
3. Abbildungen und Tabellen	33
D. B E S P R E C H U N G	45
E. Z U S A M M E N F A S S U N G	51
F. L I T E R A T U R	52

Digitized by the Internet Archive
in 2026

A. EINLEITUNG

=====

I. Die Fähigkeit roter Blutzellen Methämoglobin zurückzubilden

Die Hauptfunktion des intraerythrocytären Blutfarbstoffs ist der Gastransport (4). Um diesen voll erfüllen zu können, muß das Eisen im Hämoglobinmolekül in zweiwertiger Form vorliegen. Bei der Reaktion von Hämoglobin mit Sauerstoff können zwei grundsätzlich verschiedene Vorgänge ablaufen: Einmal die reversible Anlagerung von Sauerstoff an das Hämoglobinmolekül, wobei Oxy-Hämoglobin entsteht (= Oxygenation), und zum anderen eine einstufige Oxydation des Hämoglobin zu Methämoglobin, wobei unter Abgabe eines Elektrons das zweiwertige Eisen in seine dreiwertige Form übergeführt wird (33).

Durch die Dreiwertigkeit des Eisens gehen die freien Valenzen für die Sauerstoffanlagerung verloren, sodaß das Methämoglobin für den Sauerstofftransport ausfällt und den inaktiven Hämoglobinen zuzurechnen ist (10). Würden hier keine weiteren Faktoren wirksam werden, so würde innerhalb einiger Tage das Hämoglobin im Blut zu Methämoglobin oxydiert sein und damit die Sauerstofftransportfunktion entfallen. Um dies zu verhindern, besitzt die Blutzelle ein spezifisches Fermentsystem, das das laufend anfallende Methämoglobin wieder zu funktionstüchtigem Hämoglobin reduziert (40,62,63,64,84,109,110,111).

Die Aufklärung dieses Fermentmechanismus verdanken wir im wesentlichen den Untersuchungen von GIBSON; GUTMAN, JANDORF und BODANSKY; HAUSCHILD; HUNNEKENS et al.; KIESE und SCHWARTZKOPF; SCOTT et al.; WARBURG et al. und WENDEL.

II. Der Fermentmechanismus der Methämoglobinrückbildung

Die an der Methämoglobinreduktion beteiligten Fermentsysteme (Reduktasen oder Diaphorasen) sind eng an die Glykolyse gekoppelt, wobei in einer stufenweisen Dehydrierung der für die Methämoglobinreduktion notwendige Wasserstoff geliefert und auf die Diaphorasen übertragen wird.

Dieser Vorgang erfolgt an zwei verschiedenen Stellen des Glucoseabbaus. Der erste und bedeutendste Weg führt über den Cofaktor Nikotinsäureamid-adenin-dinucleotid (=NAD, früher DPN). Beim Abbau der Triosen wird NAD zu NADH_2 reduziert und dies kann so als Wasserstoffdonator dienen. Die ständige Reduktion des NAD erfolgt vornehmlich über die Glyceraldehyd-3-phosphodehydrogenase, während der Weg über die Lactatdehydrogenase nur eine geringere Rolle spielt.

Ein zweiter unter physiologischen Bedingungen unbedeutender Reduktionsmechanismus verläuft über das reduzierte Nikotinsäureamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NADPH_2 , früher TPNH), das beim ersten Schritt des Hexosemonophosphatshunts unter dem Einfluß der Glucose-6-phosphatdehydrogenase aus NADP entsteht. Dieser Stoffwechselweg kann durch Methylenblau aktiviert werden, was in der heutigen Behandlung der Methämoglobinämie therapeutisch ausgenutzt wird (64).

Die Pyridinnukleotide sind Cofaktoren von Fermenten, deren Funktion darin besteht, H^+ -Ionen auf einen Akzeptor zu übertragen (100). Im Falle der Methämoglobinreduktion geschieht dies vermittelt der Methämoglobinreduktasen, die jeweils für NADH_2 und NADPH_2 spezifisch sind.

Nach den Untersuchungen von SCOTT et al. lassen sich zwei NADH_2 -Dehydrogenasen (Diaphorasen) unterscheiden, die zusammen etwa 66% der gesamten intrazellulären Methämoglo-

binreduktion bewirken. Diese beiden Dehydrogenasen sind sowohl in ihrem chromatographischen wie kinetischen Verhalten different. Die Aktivitäten der NADH_2 -Dehydrogenase I zur NADH_2 -Dehydrogenase II stehen annähernd im Verhältnis 10:1.

Ebenso sind auch zwei NADPH_2 -Dehydrogenasen - A und B - bekannt, die sich chromatographisch trennen lassen, ansonsten aber keine unterschiedlichen Eigenschaften besitzen. Über den NADPH_2 -abhängigen Reduktionsweg laufen nur 5% der gesamten Methämoglobinrückbildung (114).

Neben diesen an die Glykolyse gebundenen Reduktionsmechanismen gibt es in der roten Blutzelle noch zwei weitere Substanzen, die direkt imstande sind, Methämoglobin zu reduzieren. Diese sind Glutathion und Ascorbinsäure.

Reduziertes Glutathion (GSH) kann Methämoglobin unter gleichzeitiger Oxydation zu GSSG reduzieren und dann selbst wieder, vornehmlich unter NADPH_2 -Einfluß zu GSH reduziert werden. Somit ist die Methämoglobinreduktion durch Glutathion indirekt wieder von der Glucose-6-phosphatdehydrogenase also dem Hexosemonophosphat-shunt abhängig. Allerdings ist die Methämoglobinreduktion mittels Glutathion umstritten. Während McDONALD und HUISMAN eine Beteiligung des GSH an der Reduktion annehmen, fanden BEUTLER und KELLEY, daß es unter physiologischen Bedingungen kaum Bedeutung für die Methämoglobinreduktion hat. SCOTT et al. geben die auf das GSH entfallende Reduktionsrate mit 12% der gesamten Methämoglobinreduktion an (25, 42, 46, 89, 95).

Ascorbinsäure reduziert intrazelluläres Methämoglobin auf direktem Wege, wobei sie selbst zu Dehydroascorbinsäure oxydiert wird (45). An der gesamten Reduktionsleistung wird ihr von SCOTT et al. ein Anteil von 15% zugeschrieben (114).

III. Das besondere Verhalten von Nabelschnurblut bei der Methämoglobinrückbildung

Nachdem bereits KIESE et al. und SPICER und REYNOLDS sowie andere Untersucher in Tierversuchen eine Species- und Altersabhängigkeit der Methämoglobinreduktion nachgewiesen hatten (35,43,69,103,120), machten erstmals KÜNZER und SAVELSBURG auf einen erhöhten Methämoglobinspiegel im Säuglingsblut aufmerksam, der eine erhöhte Labilität im Redoxsystem Methämoglobin/Hämoglobin junger Säuglinge vermuten ließ. Dies stand in Einklang mit der klinischen Beobachtung, daß besonders junge Säuglinge eine verstärkte Neigung, an Methämoglobinämien zu erkranken, aufwiesen (20). Weitere Untersuchungen an Nabelschnur- und Erwachsenenerythrocyten führten zur Entdeckung einer signifikant erniedrigten Methämoglobin-Reduktionsleistung im Nabelschnurblut und Blut junger Säuglinge gegenüber Erwachsenenblut (9,11,17,86,89,96,101,102).

Andererseits sind aber die Ergebnisse auch nicht unwidersprochen geblieben.

So konnten THAL und LACHHEIN und LACHHEIN und NAUMANN, die ihre Untersuchungen mit Glukose und Laktat als Substrat und unter Ascorbinsäurezusatz zur Reduktionsbeschleunigung unternahmen, keine Differenzen der Methämoglobinreduktion zwischen Nabelschnur- und Erwachsenenblut finden. Diese Untersuchungen wurden zum Ausschluß der Spontanoxydation unter CO-Atmosphäre durchgeführt und die Reduktion an dem für die CO-Hämoglobinbildung verbrauchten Kohlenmonoxyd gemessen, während andere Untersucher die Bestimmung der Methämoglobinrückbildung über die Diaphorasetätigkeit mit dem Farbttest nach SCOTT oder über die Reduktionsleistung intakter Zellen zum Teil unter Luftatmosphäre durchgeführt hatten.

IV. Eigene Fragestellung

Da über die experimentelle Reduktion von Nabelschnur- und Erwachsenenerythrocyten widersprüchliche Untersuchungsergebnisse vorliegen, wollten wir in eigenen Untersuchungen nochmals prüfen, ob sich Unterschiede in der Reduktionsleistung zwischen Nabelschnur- und Erwachsenenerythrocyten nachweisen lassen und ob sich eine Erklärung für die unterschiedlichen Ergebnisse der verschiedenen Untersucher finden läßt. Dabei beschäftigte uns besonders die Frage, inwieweit methodische Veränderungen am in vitro-Reduktionstest zu einer Beeinflussung des Untersuchungsergebnisses führen.

Aus der Überlegung heraus, daß die Methämoglobinreduktion als Fermentreaktion in besonderem Maße pH-abhängig ist, richteten wir unser Hauptaugenmerk auf die während des Versuchsablaufs in den Suspensionen vorliegenden pH-Verhältnisse.

B. M E T H O D I K

=====

I. Untersuchungsgut

Die Untersuchungen wurden an menschlichen Erythrocyten von Erwachsenen und Neugeborenen ausgeführt. Zur Untersuchung kam Venenblut von 34 Erwachsenen und Nabelschnurblut von 20 Neugeborenen.⁺) Sowohl das Erwachsenen- wie das Nabelschnurblut wurde sofort nach der Abnahme weiter verarbeitet. Lediglich bei einigen Nabelschnurblutproben entstand aus technischen Gründen bis zur Verarbeitung eine Verzögerung bis zu einer Stunde. Als gerinnungshemmende Substanz wurde hauptsächlich Heparin verwandt, in einigen Versuchen wurde das Blut auch mechanisch defibriert, um eventuelle Abweichungen gegenüber den mit Heparin behandelten Blutproben feststellen zu können.

II. Untersuchungstechnik

1. Herstellung methämoglobinhaltiger Erythrocyten

Nach der Entnahme wurde das Blut 3 Min. bei 3000 U/min zentrifugiert, das Plasma abgehebert und im Kühlschrank aufbewahrt. Die roten Blutzellen wurden dann mit 1,17%-iger, dem Blut isotonischer Na-Nitrit-Lösung in 0,9%iger NaCl-Verdünnung (1:5) versetzt und 30 Min. im Wasserbad von 37°C inkubiert. Dabei bildeten sich die typischen "braunen Zellen", die in der Regel einen Methämoglobingehalt von 85 bis 95% aufwiesen. Anschließend wurden die Proben 3 Min. bei 3000 U/min zentrifugiert, das überstehende Kochsalz-Nitrit-Gemisch mit der Wasserstrahlpumpe

+) Ich danke Herrn Prof. Dr. ROEMER, Direktor der Universitätsfrauenklinik Tübingen, für die freundliche Überlassung des Nabelschnurblutes der Neugeborenen.

abgesaugt und das restliche Nitrit durch insgesamt 5-maliges Waschen aus der Erythrocytensuspension entfernt. Zu diesem Zweck wuschen wir die Erythrocyten 3 mal mit 0,9%iger NaCl-Lösung und anschließend 2 mal mit isotoni-scher Kochsalz-Phosphatpufferlösung verschiedener pH-Werte, um auf diese Weise den Ausgangs-pH-Wert für die Met-hämoglobinreduktion zu beeinflussen. So verwandten wir für die eher azidotische Suspension der Nabelschnurerythrocyten einen Puffer mit alkalischem pH-Wert, während wir für die eher alkalotische Suspension der Erwachsenen-erythrocyten einen Puffer bevorzugten, dessen pH im Ver-gleich dazu etwas zum Säuren hin verschoben war. Wir ver-wandten isotonische Puffergemische aus primärem Kalium- und sekundärem Natriumphosphat nach SØRENSEN von pH 7,0 und pH 7,4. Zum Gebrauch wurden die Puffer mit 0,9%igem NaCl im Verhältnis 1:10 verdünnt. Außerdem verwendeten wir in einigen Versuchen an Stelle der Phosphatpuffer-lösungen auch Ringerlösung und NaCl-Glucose-Lösung zum Waschen.

2. Bestimmung der Hämoglobinkonzentration

Um für die Messung der Hämoglobinkonzentration einen gün-stigeren Meßbereich und für das Pipettieren bessere Ver-hältnisse zu erhalten, versetzten wir das Erythrocyten-sediment mit dem zugehörigen Plasma im Verhältnis 1:1. Zur Bestimmung der Hämoglobinkonzentration benutzten wir die Cyanmethämoglobin-Methode nach BETKE und SAVELSBERG (21). Die Messungen wurden am Spektralphotometer PMQ II der Fa. Carl Zeiss durchgeführt.

Aus der Erythrocytensuspension entnahmen wir mit der Blutzuckerpipette 0,05 ml und versetzten sie mit 10 ml Transformationslösung (200 mg $K_3 Fe(CN)_6$ und 200 mg KCN ad 1000 ml aqua dest.). Nach 20 Min., bis sämtliches Hämoglobin in Cyan-Methämoglobin umgewandelt war, wurde

die Durchlässigkeit der Probe bei 540 nm im Vergleich zu einer Kuvette mit Aqua dest. gemessen. Für die gefundenen Durchlässigkeitswerte entnahmen wir aus Tabellen die zugehörigen Extinktionswerte, aus denen sich mittels eines Multiplikators (molarer Extinktionskoeffizient) und unter Berücksichtigung der Verdünnung, in unserem Fall 200-fach, die Hämoglobinkonzentration direkt in g% ermitteln ließ.

3. Verdünnung und Einstellung der Hämoglobinkonzentration

Die Erythrocytensuspensionen wurden nachfolgend mit ihrem zugehörigen Plasma so verdünnt, daß ein Hämoglobingehalt von 10 g/100 ml entstand. Damit standen die Blutproben bis auf die Substratzusätze (s. unten) für die Untersuchung der Methämoglobinreduktion bereit. In einigen Versuchen setzten wir statt des Plasmas auch Ringerlösung, NaCl-Lösung und Kochsalz-Phosphatpufferlösung zu, um deren Einwirkung auf die Methämoglobinreduktion zu beobachten.

4. Bestimmung der H.-Jonen-Konzentration

Zur Bestimmung der H.-Jonen-Konzentration wurde das aktuelle pH in der Ansatzlösung bestimmt. Die Messungen wurden mit dem Astrup Radiometer der Firma Radiometer Kopenhagen durchgeführt. Wie üblich bei diesem Gerät wurde das Blut bzw. die Erythrocytensuspension in eine Hämatokritkapillare gefüllt, aus der anschließend das Gerät beschickt wurde. Die pH-Messung schloß sich der Blutentnahme unmittelbar an. Es wurden jeweils Doppelbestimmungen durchgeführt.

5. Substratzusätze

Als Substrat verwendeten wir hauptsächlich Glucose, in einigen Versuchen wurde auch Laktat als Substrat verwandt.

Die Substrate gaben wir jeweils erst nach 15-minütiger Durchmischung der Blutproben im Tonometerapparat hinzu und nahmen diesen Zeitpunkt gleichzeitig als Wert 0 der Methämoglobinreduktion. Zu 1 ml Erythrocytensuspension gaben wir bei den Versuchen mit Glucose als Substrat 0,025 ml einer 5%igen Glucoselösung (= 125 mg% Glucose in der Endkonzentration) und bei den Versuchen mit Laktat als Substrat 0,05 ml einer 4%igen Na-Laktat-Lösung.

6. Versuchsanordnung

Von den auf 10 g% eingestellten Erythrocytensuspensionen wurden jeweils 4 ml in Tonometerkolben, die sich in einem Wasserbad von 37°C befanden, eingefüllt. Die Tonometergefäße wurden während des ganzen Versuchsablaufs im Wasserbad geschüttelt. Durch das Schütteln erzielten wir eine bessere Durchmischung der Suspensionen, sodaß die Temperaturkonstanz von 37°C sowie eine gleichmäßige Gasdurchmischung in der gesamten Suspension garantiert waren.

In der Regel entnahmen wir nach 15-minütiger Inkubation der Erythrocytensuspension, also gleich nach Substratzugabe, die erste Blutprobe zur Bestimmung der Methämoglobin- und pH-Ausgangswerte. Lediglich in einigen Vorversuchen dehnten wir diese Zeitspanne auf 30 bis 45 Min. aus. Von diesem Zeitpunkt an gerechnet wurden in bestimmten Zeitabständen weitere Proben zur Bestimmung des Methämoglobingehalts entnommen. Für unsere Versuche reichten Entnahmen nach 1 1/2 und 3 Std. aus, da aus diesen Werten die Methämoglobinrückbildungsleistung ersichtlich war. Wir setzten die Versuche auch deswegen nicht länger als 3 Std. fort, da wir ermittelt hatten, daß dann inzwischen das pH in unseren Ansätzen zu weit auf unphysiologische Werte abgesunken war.

Bei jeder Blutentnahme zur Methämoglobinbestimmung wurde auch gleichzeitig eine pH-Bestimmung durchgeführt. In

einer größeren Anzahl von Versuchen prüften wir auch die Einwirkung von verschiedenen Gasgemischen auf das pH-Verhalten und die Methämoglobinreduktion.⁺⁾ Zur Anwendung kamen zwei verschiedene Gasgemische: einmal mit einem Gehalt von 5,48% CO₂ und 17,1% O₂; zum anderen ein Gemisch von 2,64% CO₂ und 17,5% O₂. Die Zusammensetzung der Gasgemische war so gewählt, daß sie in etwa den Verhältnissen in der Alveolarluft entsprechen sollte. In den Versuchen mit Gasgemischen wurden die Tonometergefäße während der ganzen Versuchsdauer mit den entsprechenden Gasen durchströmt.

7. Methämoglobinbestimmung

Die Bestimmung des Methämoglobingehalts wurde jeweils in Doppelbestimmungen durchgeführt. Wir entnahmen unseren Ansätzen 0,2 ml Erythrocytensuspension und gaben diese in 6 ml eisgekühlte 0,9%ige NaCl-Lösung, um so sämtliche Stoffwechselvorgänge abzustoppen. Anschließend zentrifugierten wir 3 Min. bei 3000 U/min, heberten das überstehende NaCl zusammen mit dem Plasma mittels der Wasserstrahlpumpe ab und versetzten den zurückbleibenden Erythrocytenbrei mit 6 ml Aqua dest. Nach 5 Min. waren die Blutzellen vollständig hämolysiert, sodaß wir nun 0,4 ml einer 2 M Phosphatpufferlösung nach SØRENSEN von pH 6,8 zusetzten. Danach wurden die Proben zur Reinigung von den Stromata 10 Min. bei 6000 U/min zentrifugiert und das überstehende Hämolsat vorsichtig abgehoben.

Zur Bestimmung des Methämoglobins verwendeten wir die indirekte spektrophotometrische Methode nach EVELYN und MALLOY. Die Messungen wurden ebenso wie die Bestimmungen

+) Ich danke Herrn Prof. Dr. H. BARTELS, Physiologisches Institut der Universität Tübingen, für die freundliche Überlassung der Gasgemische.

der Hämoglobinkonzentration am Spektralphotometer PMQ II der Firma Carl Zeiss ausgeführt und gegen eine Kuvette mit Aqua dest. als Vergleichslösung gemessen.

Die Meßlösung wurde in zwei gleiche Portionen geteilt, deren eine ohne Zusatz blieb und als Probe 1 bezeichnet wurde. Die andere Portion, als Probe 2 bezeichnet, wurde mit einem Tropfen einer 1%igen $K_3 Fe(CN)_6$ -Lösung versetzt und 5 Min. lang stengelassen, um das Hämoglobin vollständig in Methämoglobin umzuwandeln.

Mit den beiden Proben 1 und 2 wurden nun insgesamt vier Messungen bei 630 nm am Spektralphotometer ausgeführt. In der ersten Messung ermittelten wir die Durchlässigkeit der Probe 1 ohne Zusatz. In der zweiten Messung wurde die Durchlässigkeit der Probe 1 mit dem Zusatz eines Tropfens einer 5%igen KCN-Lösung gemessen, wobei es zum Auslöschen der Met-Hb-Bande bei 630 nm gegenüber der ersten Messung kommt, wenn Methämoglobin vorhanden ist und in CN-Methämoglobin umgewandelt wird. In der dritten Messung wurde die Durchlässigkeit der Probe 2, in der durch den $K_3 Fe(CN)_6$ -Zusatz 100% Methämoglobin vorlag, und in einer vierten Messung die Durchlässigkeit der Probe 2 nach Zusatz eines Tropfens einer 5%igen KCN-Lösung gemessen. Durch den KCN-Zusatz hatte sich das hier zu 100% vorliegende Methämoglobin in 100% CN-Methämoglobin verwandelt, wodurch es wiederum zu einer Aufhellung kam. Aus dem Quotienten

$$\frac{\text{direkte Aufhellung}}{\text{Gesamtaufhellung}}$$

ließ sich die Methämoglobinkonzentration berechnen. Dazu ermittelten wir zu den von uns gefundenen Werten für die Durchlässigkeit die zugehörigen Extinktionswerte aus Tabellen und berechneten die Methämoglobinkonzentration nach der Formel

$$\frac{E_1 - E_2}{E_3 - E_4} \times 100 = \% \text{ Methämoglobin}$$

wobei E_1 bis E_4 die zugehörigen Extinktionswerte zu den Meßwerten 1 bis 4 bedeuten.

Da sich für unsere Untersuchungen nur Ansätze mit dem gleichen Anfangsgehalt an Methämoglobin exakt miteinander vergleichen lassen, rechneten wir sämtliche Methämoglobinwerte auf Prozent des Ausgangswertes um. Den gemessenen Methämoglobinausgangswert setzten wir als 100% und bezogen sämtliche 1 1/2 und 3 Std.-Werte prozentual auf ihn.

Das durch die Reduktion entstandene Oxyhämoglobin errechneten wir jeweils aus der Differenz zu 100% Methämoglobin. In unseren Abbildungen gaben wir die Rückbildungsleistung jeweils in Prozent gebildeten Oxyhämoglobins in der Zeiteinheit an.

C. V E R S U C H S E R G E B N I S S E

=====

I. Vorversuche

1. Einfluß des pH auf die Methämoglobinreduktion

In ersten orientierenden Untersuchungen der Methämoglobinreduktion und im Zusammenhang damit angestellten Messungen des pH in unseren Erythrocytenansätzen war uns aufgefallen, daß das pH in unseren Ansätzen im Laufe des Versuchs regelmäßig zum Säuren hin abfiel. Beim Vergleich des pH-Abfalls in Nabelschnur- und Erwachsenenblutproben stellten wir außerdem fest, daß dieser Abfall in den Nabelschnurblutproben zum Teil steiler war und der Anfangswert auch generell unter dem der Erwachsenenblutproben lag.

Aus der Abb. 1 ist deutlich ersichtlich, daß 1. das pH während des Versuchablaufs deutlich und zwar fast linear abfällt, 2. der pH-Abfall in den Nabelschnurblutsuspensionen rascher vonstatten geht als in denen von Erwachsenenblut und 3. der pH-Wert im Nabelschnurblut schon zu Versuchsbeginn generell niedriger liegt als im Erwachsenenblut.

Im Anschluß an diese Feststellung interessierte uns die Frage, ob ein in diesem Maße unterschiedliches pH auch einen Einfluß auf die Reduktionsgeschwindigkeit des Methämoglobins habe.

Wir stellten deshalb von dem gleichen Erwachsenenblut vier Proben methämoglobinhaltiger Erythrocyten her und versetzten diese mit vier Pufferlösungen unterschiedlicher pH-Werte. Zur Anwendung kamen isotonische NaCl-Phosphatpuffer nach SØRENSEN mit pH-Werten von 6,0; 7,0; 7,5 und 8,0. In den Ansatzlösungen nahmen wir 15 Min. nach Reduktionsbeginn sowie nach 5 Std. jeweils eine pH-Be-

stimmung vor. Das pH zeigte während des Versuchablaufs in allen Proben einen deutlichen Abfall, während die pH-Unterschiede der Proben untereinander im großen und ganzen erhalten blieben. Methämoglobinbestimmungen zur Feststellung der Reduktionsleistung nahmen wir zu Versuchsbeginn sowie nach 2 und 6 Std. Versuchsdauer vor. Als Substrat wurde Glucose zugesetzt. Die Ergebnisse dieses Versuchs sind aus der Abb. 2 ersichtlich. Es konnte in dieser Versuchsserie eine deutliche Abhängigkeit der Reduktionsgeschwindigkeit vom jeweils in den Ansatzlösungen herrschenden pH festgestellt werden, wobei mit alkalischem pH die Reduktionsgeschwindigkeit anstieg, während sie im sauren Milieu abfiel.

Ebenso zeigt sich die Abhängigkeit der Methämoglobinreduktion vom pH in der Abb. 3. Hier haben wir die unterschiedlichen Reduktionsleistungen aus 9 Versuchen mit dem gleichen Erwachsenenblut zum jeweils errechneten Mittelwert der gemessenen pH-Werte in Beziehung gesetzt.

Diese Abbildung gab uns bereits einen deutlichen Hinweis auf die Möglichkeit der Abhängigkeit der Reduktionsleistung vom pH, wie es dann später auch (siehe Abb. 13) in einer Berechnung unserer gesamten Versuchsergebnisse mathematisch im großen und ganzen bestätigt wurde.

2. Die Einwirkung unterschiedlicher Verdünnungs- lösungen

In Versuchen, in denen wir verschiedene Plasma/Erythrocytenrelationen erzeugt hatten, sahen wir, daß die Methämoglobinreduktion umso schneller ablief, je mehr Plasma und je weniger Erythrocyten in den Ansatzlösungen vorhanden waren. Im übrigen wirkte ein höherer Plasmazusatz auch stabilisierend auf das pH. Die Abb. 4 zeigt die verschieden großen Methämoglobinreduktionsgeschwindigkeiten und die pH-Änderung in einem der Versuche mit unterschied-

licher Plasma/Erythrocytenrelation. Es wurden drei verschiedene Mischungen von Plasma:Erythrocyten verwandt und zwar in den Verhältnissen 3:1; 1:1 und 1:3. Die Methämoglobinkonzentration und die pH-Werte wurde zu Beginn und nach 4-stündigem Versuchverlauf gemessen.

Weiterhin untersuchten wir vergleichend 0,9%ige NaCl-Lösung, Ringer-Lösung und Plasma als Verdünnungsflüssigkeit der Erythrocytensuspensionen zur Bestimmung der Methämoglobinreduktion. Dabei ergab sich, daß die pH-Werte unter Plasmazusatz weit eher im physiologischen Bereich blieben als unter Zusatz der beiden anderen Verdünnungsflüssigkeiten und daß somit auch die Reduktionsleistung bei Verwendung von Plasma als Verdünnungsflüssigkeit am größten war.

3. Verwendung von Gasgemischen sowie Stickstoff und Sauerstoff⁺

Im Rahmen der Suche nach Möglichkeiten, den während unserer Versuche auftretenden Abfall des pH aufzuhalten, unternahmen wir auch einige Versuche unter Durchperlung des Untersuchungsguts mit Gasgemischen. Wir wollen dabei feststellen, ob sich mittels der Gasdurchperlung eventuell der während des Versuchs auftretende pH-Abfall aufhalten ließ. Das war auch, wie aus der Abb. 5 hervorgeht, in geringem Maße der Fall. Jedoch war der Unterschied gegenüber den Versuchen ohne Gasdurchperlung zu gering, als daß sich der Aufwand für unsere weiteren vergleichenden Untersuchungen gelohnt hätte. Darüberhinaus machten wir noch die Beobachtung, daß das pH in den Ansätzen mit Gasdurchperlung initial etwas stärker abfiel, als in den Ansätzen ohne Gas. Diese Feststellung konnten

⁺) Herrn Priv. Doz. Dr. K. RIEGEL, Universitätskinderklinik Tübingen, danke ich für die Beratung bei der Durchführung dieser Versuche.

wir uns später in einem anderen Versuch zu Nutze machen. (s. Abschnitt 4).

In der Abb. 5 sind die errechneten Mittelwerte für pH-Verhalten und Reduktionsleistung von insgesamt 11 Untersuchungen mit dem gleichen Erwachsenenblut zusammengestellt. Davon sind 3 Versuche ohne Gas, 3 weitere Versuche mit einem Gasgemisch der Zusammensetzung 5,48% CO₂ und 17,1% O₂ und 5 Versuche mit einem Gemisch der Zusammensetzung 2,64% CO₂ und 17,5% O₂.

Im Anschluß an die Untersuchungen mit Gasgemischen führten wir zu unserer Orientierung auch eine vergleichende Bestimmung der Methämoglobinreduktion unter reiner Stickstoff- und Sauerstoffatmosphäre durch. Dabei trat ein deutlicher Unterschied der Reduktionsleistungen zu Tage. Im Stickstoffmilieu reduzierte das Blut erheblich rascher als im Sauerstoffmilieu. Die pH-Unterschiede zeigten nur eine mäßige Differenz, sodaß die unterschiedliche Reduktionsleistung mit den pH-Unterschieden allein nicht zu erklären ist. Hier müssen noch andere Mechanismen wirksam sein. Für unsere weiteren Untersuchungen kamen derartige Versuchsanordnungen auch nicht in Frage, da sie den in vivo-Verhältnissen zuwenig entsprechen.

4. Heparinzusatz und mechanische Defibrinierung

Zum Ausschluß einer eventuellen Abhängigkeit der Methämoglobinreduktion von der Verwendung unterschiedlicher Verfahren zur Hemmung der Blutgerinnung machten wir vergleichende Reduktionsbestimmungen mit Blutproben, die wir einmal mit Glasperlen mechanisch defibriniert zum anderen mit Heparin als Antikoagulans versetzt hatten. Um hier jeweils ein annähernd gleiches pH in den Ansatzlösungen zu erhalten, konnten wir uns eine Erfahrung aus unseren Versuchen mit Gasgemischen zu Nutze machen.

Dort hatten wir festgestellt, daß bei der Durchflutung mit Gasgemischen das pH in der Ansatzlösung initial etwas stärker abfiel als ohne Gasdurchflutung. Da das pH in einigen unserer Erythrocytensuspensionen aus dem mit Heparin behandelten Blut oft etwas höher lag als beim mechanisch defibrinierten Blut, durchströmten wir diese Ansätze zu Versuchsbeginn mit einem Gasgemisch und konnten so in beiden Vergleichslösungen gleiche pH-Verhältnisse erreichen.

Wie aus der Abb. 7 ersichtlich ist, ermittelten wir bei durchschnittlich fast gleichen pH-Verhältnissen auch gleiche Methämoglobinreduktionsleistungen. In der Abbildung sind die jeweiligen Mittelwerte des pH und der Reduktion von 3 Blutproben, die mechanisch defibriniert wurden und 3 Blutproben, die mit Heparin als Antikoagulant behandelt wurden, aufgezeichnet. Es wurde jeweils das gleiche Erwachsenenblut verwandt.

5. Beeinflussung des pH durch Waschen der Erythrocyten mit verschiedenen Puffern

Da wir in unseren Vorversuchen gesehen hatten, daß das pH in den Ansatzlösungen der Nabelschnurer erythrocyten für gewöhnlich unter dem pH der Erwachsenenblutproben lag, ging unser Bestreben dahin, das pH in den Ansatzlösungen so zu beeinflussen, daß die Werte des Nabelschnur- und Erwachsenenblutes schon vor Versuchsbeginn einander angeglichen waren. Dafür standen uns nun mehrere Möglichkeiten zur Verfügung: 1. konnten wir, so wie wir in unseren Versuchen zur Feststellung der Abhängigkeit der Reduktionsleistung vom pH verfahren waren, die Erythrocyten statt mit ihrem Plasma mit verschiedenen Phosphatpuffern verdünnen und inkubieren. Damit hätten wir aber dem uns gesteckten Ziel - so weit als möglich unter in vivo-Verhältnissen zu untersuchen - widersprochen. Im übrigen hatten wir ja auch gesehen, daß zwischen Plasma-

und anderen Zusätzen als Verdünnungsflüssigkeit doch recht erhebliche Unterschiede in der Reduktionsleistung vorlagen.

2. hätten wir die Möglichkeit gehabt, unsere Erfahrungen aus den Versuchen mit Gasgemischen auszunutzen. Dort hatten wir gesehen, daß die Gasdurchströmung den pH-Abfall während des Versuchs etwas bremste. Wir hätten also in eine unserer Versuchslösungen, und zwar in die Nabelschnurblutprobe, da diese ja gewöhnlich ein niedrigeres pH aufwies, Gas einleiten müssen. Diese Möglichkeit haben wir auch mehrfach erprobt, mußten aber feststellen, daß die initialen pH-Unterschiede zwischen Nabelschnur- und Erwachsenenblut so beträchtlich waren (meist bis zu 2/10 pH-Einheiten), daß die geringe Wirkung der Gasdurchflutung nicht ausreichte, das pH in unseren beiden Erythrocytensuspensionen einander anzugleichen. Außerdem legten wir ja auch Wert darauf, die Methämoglobinreduktion möglichst unter gleichen Versuchsbedingungen in beiden Ansätzen ablaufen zu lassen, um so exakte Vergleichsmöglichkeiten zu haben. Das wäre dann auch nicht mehr in vollem Umfang gegeben gewesen.

Deswegen erprobten wir noch eine weitere Möglichkeit, das pH in unseren Ansatzlösungen zu beeinflussen. Wir wuschen die Erythrocyten der beiden zu vergleichenden Blute mit NaCl-Phosphatpufferlösungen nach SØRENSEN verschiedener pH-Werte und fügten dann wie üblich das zugehörige Plasma hinzu. Durch Waschen mit Phosphatpufferlösung von pH 7,0 konnten wir den Ausgangs-pH-Wert in unseren Versuchslösungen erniedrigen und durch Waschen mit einer Pufferlösung von pH 7,4 erhöhen.

Wie aus dem Versuch der Abb. 8 ersichtlich, konnten wir mit dieser Verfahrensweise in beiden Ansätzen pH-Unterschiede von bis zu 2/10 pH-Einheiten erzielen. Dieses Verfahren reichte dann auch aus, um die pH-Unterschiede

zwischen Erwachsenen- und Nabelschnurblut weitgehend zu überwinden. Wir wuschen die meist azidotischen Nabelschnurerythrocyten mit Puffern von pH 7,4 und die alkalotischen Erwachsenenerythrocyten mit Puffern von pH 7,0.

Damit hatten wir gleichzeitig auch die Möglichkeit, die eigentliche Reduktion unter gleichen Versuchsbedingungen ablaufen zu lassen, während wir lediglich vor Versuchsbeginn eine Korrektur des pH in beiden Versuchslösungen vorgenommen hatten.

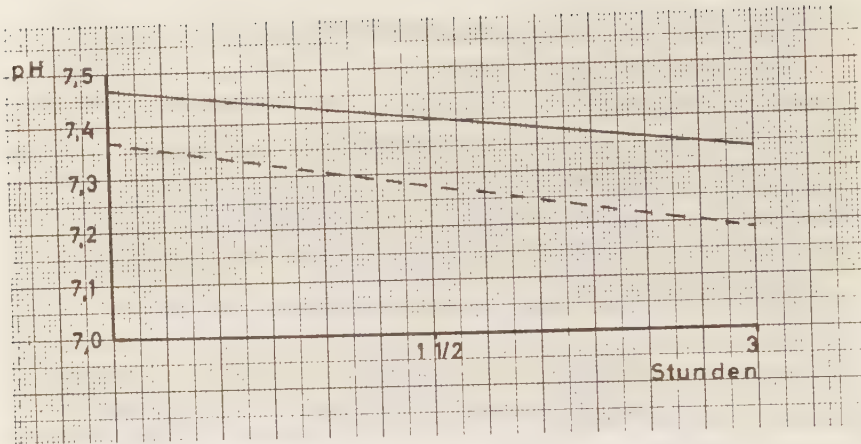


Abb. 1: Zusammenstellung der arithmetischen Mittel der pH-Werte aus 6 Erwachsenen- — und 6 Nabelschnurblutsuspensionen - - - unter gleichen Versuchsbedingungen während der Methämoglobinreduktion.

Vers.Nr.	Erwachsenenblut			Nabelschnurblut		
	Anf.-Wert	nach 1 1/2 Std	nach 3 Std	Anf.-Wert	nach 1 1/2 Std	nach 3 Std
9	7,34	7,27	7,19	7,24	7,14	7,11
12	7,50	7,42	7,35	7,36	7,26	7,18
13	7,48	7,41	7,36	7,32	7,23	7,17
15	7,46	7,38	7,33	7,46	7,37	7,28
16	7,56	7,48	7,41	7,49	7,38	7,27
18	7,58	7,50	7,41	7,32	7,24	7,15
Mittelwert	7,47	7,41	7,34	7,37	7,27	7,19

Tab. 1: Zusammenstellung der Versuchsergebnisse (pH-Werte), aus denen die Werte der Abb. 1 errechnet wurden.

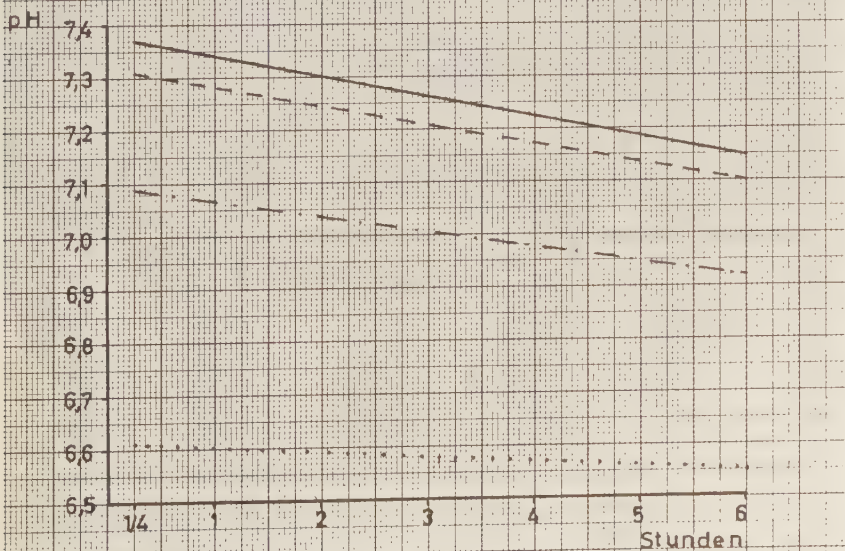
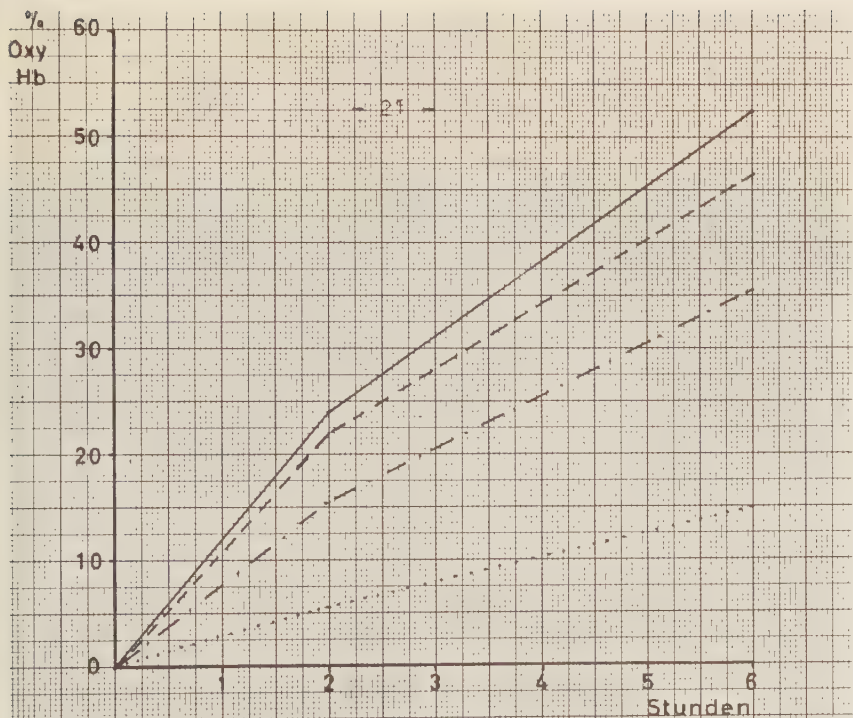


Abb. 2: Methämoglobinreduktion in einem Erwachsenenblut bei experimentell erzeugten unterschiedlichen pH-Verhältnissen in 4 verschiedenen Ansätzen. Das untere Diagramm zeigt die jeweilige pH-Änderung soweit sie aus den Messwerten ersichtlich war.

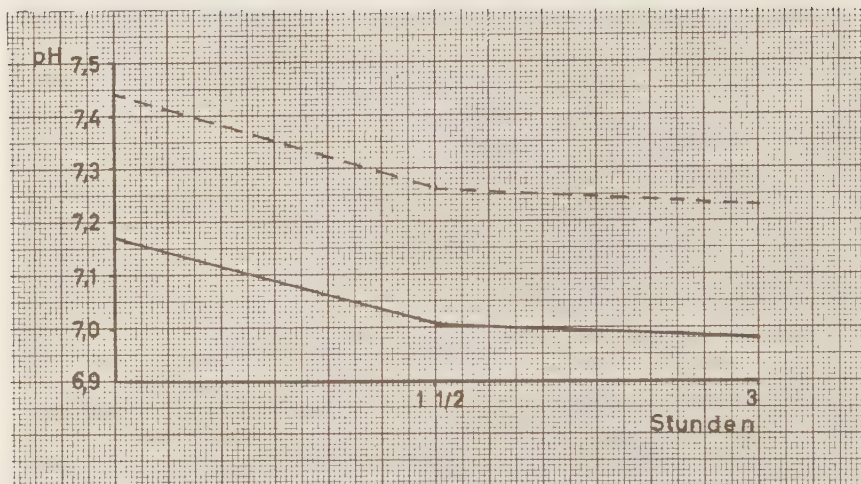


Abb. 3: Abhängigkeit der Met-Hb-Reduktion vom pH. Es ist die Reduktionsleistung nach 3 Std. zum errechneten Mittelwert des gemessenen pH in Beziehung gesetzt. Die ausgezogene empirische Gerade soll die mögliche Beziehung verdeutlichen.

Vers. Nr.	gemessene pH-Werte			errechn. mittl. pH-Wert	Redukt. n. 3 Std % Oxy-Hb
	Ausg. Wert	nach 1 1/2 Std	nach 3 Std		
6	7,27	7,27	7,26	7,27	26
7	7,63	7,56	7,46	7,55	33
12	7,50	7,42	7,35	7,42	29
16	7,56	7,48	7,41	7,46	32
18	7,58	7,50	7,41	7,48	37
19	7,58	7,49	7,44	7,50	29
20	7,44	7,35	7,26	7,35	35
23	7,17	7,01	6,98	7,05	15
23	7,44	7,26	7,23	7,31	20

Tab. 2: Zusammenstellung der der Abb. 3 zu Grunde liegenden Werte.

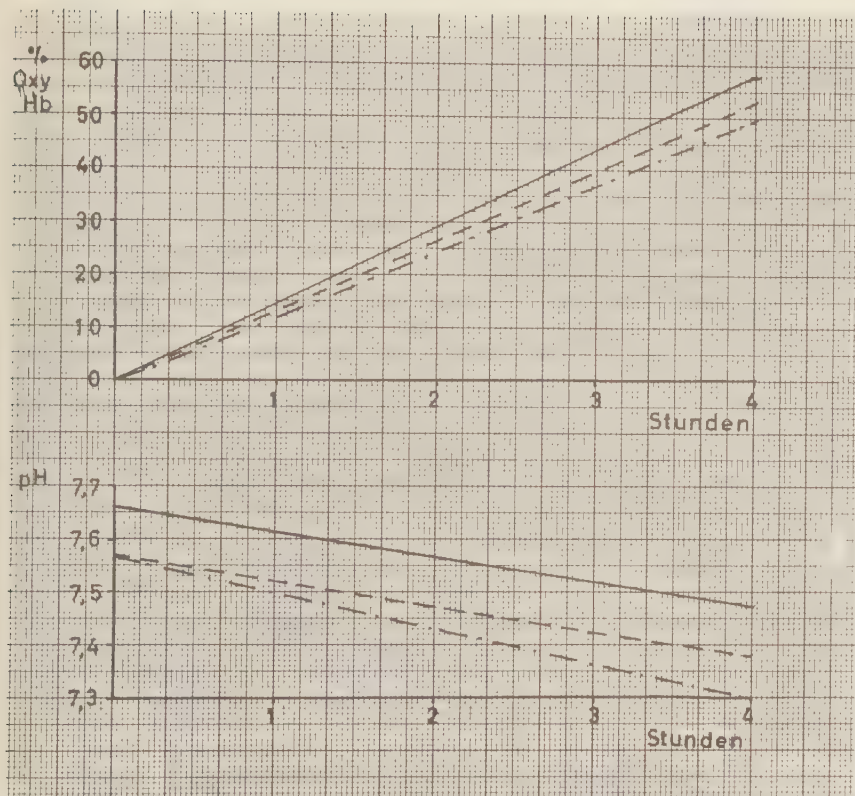


Abb. 4: Abhängigkeit der Methämoglobinreduktion von der Plasma/Erythrocyten-Relation.
Verhältnis 3:1 — , 1:1 - - - , 1:3 - · - · -

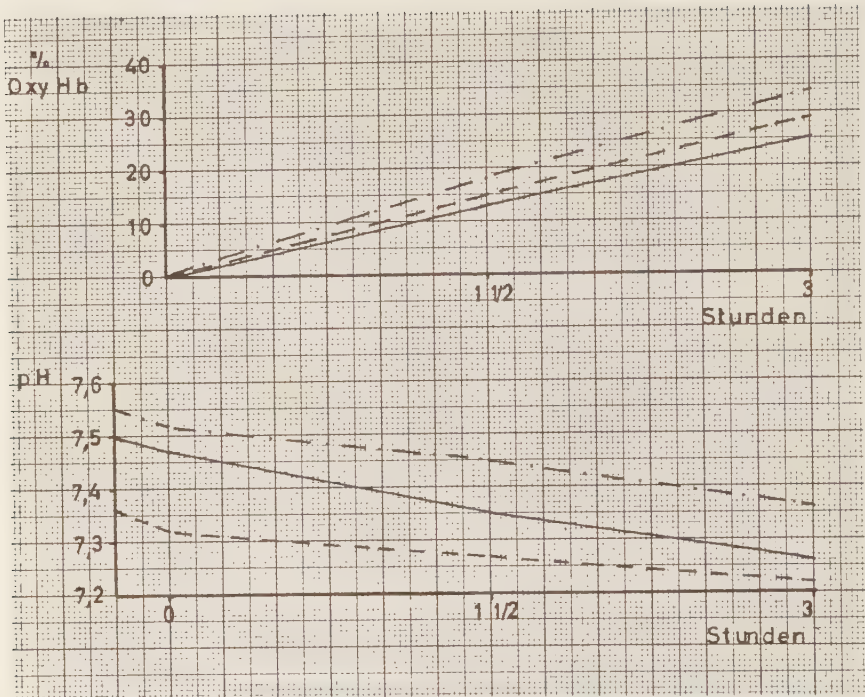


Abb. 5: Mittelwerte der Met-Hb-Reduktion und des pH aus 3 Versuchen ohne Gas — ; 3 Versuchen mit Gasgemisch 5,48% CO₂ und 17,1% O₂ - - - ; und 5 Versuchen mit Gasgemisch 2,64% CO₂ und 17,5% O₂ -.-.-.

Vers. Nr.	pH-Werte				Red. in % Oxy-Hb	
	15 Min vor Beg.	Anf.- Wert	nach 1 1/2 Std	nach 3 Std	nach 1 1/2 Std	nach 3 Std

3 Versuche unter Luftatmosphäre

7	7,64	7,63	7,56	7,46	19	34
23	7,53	7,44	7,26	7,23	11	21
27	7,34	7,34	7,23	7,15	10	22
arithmet.						
Mittel	7,50	7,47	7,35	7,26	13	25

3 Versuche mit Gasgemisch 5,48% CO₂, 17,1% O₂

6	7,33	7,27	7,27	7,26	13	26
9	7,36	7,34	7,27	7,19	13	27
10	7,39	7,35	7,27	7,22	19	35
arithmet.						
Mittel	7,36	7,32	7,27	7,22	15	29

5 Versuche mit Gasgemisch 2,64% CO₂, 17,5% O₂

10	7,56	7,54	7,45	7,36	21	37
12	7,52	7,50	7,42	7,35	13	29
16	7,57	7,56	7,48	7,41	16	32
18	7,62	7,58	7,50	7,41	19	37
20	7,46	7,44	7,35	7,26	21	35
arithmet.						
Mittel	7,55	7,52	7,45	7,36	18	34

Tab. 3: Zusammenstellung der Werte, die der Abb. 5 zugrunde liegen.

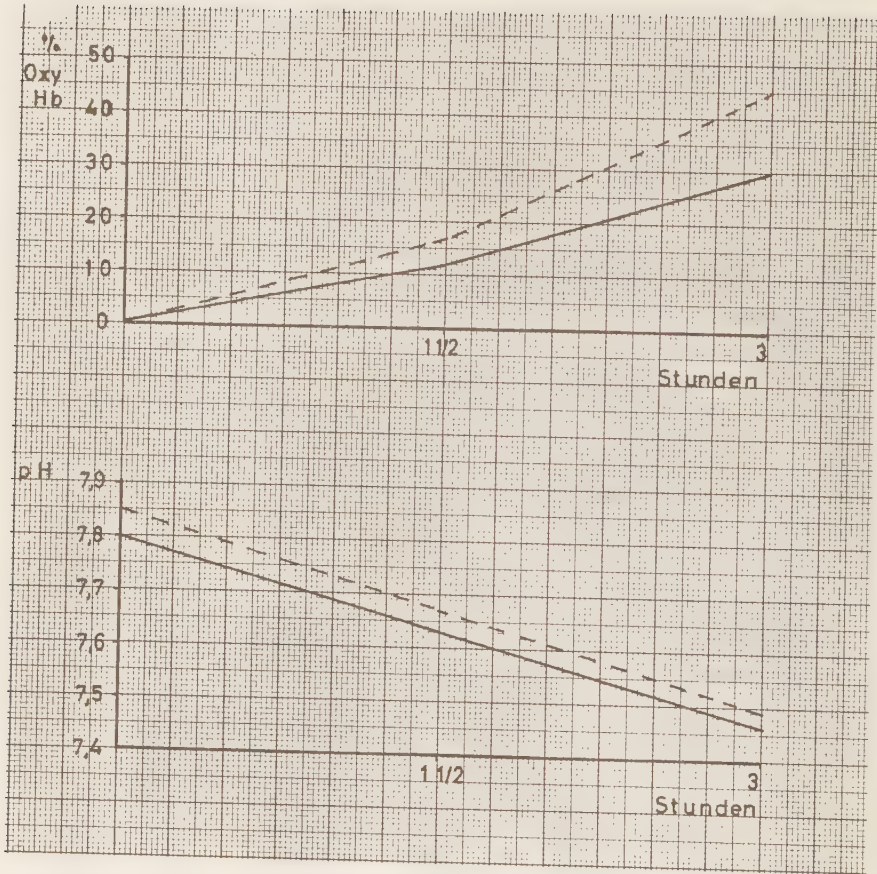


Abb. 6: Vergleichende Untersuchung der Methämoglobinreduktion und des pH-Verlaufs in einem Erwachsenenblut unter Sauerstoff- — und Stickstoffatmosphäre - - - .

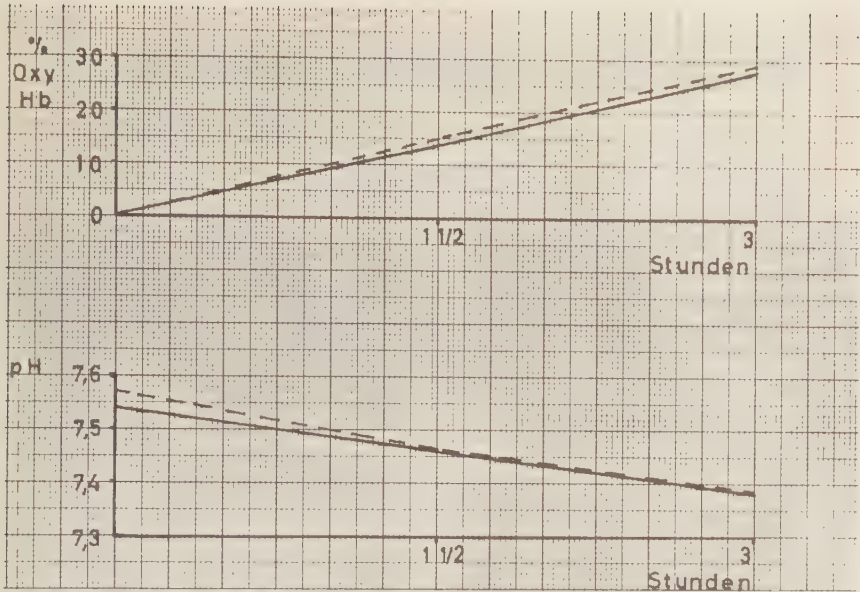


Abb. 7: Vergleichende Untersuchung der Reduktionsleistung zwischen mechanisch defibriniertem Blut und unter Heparinzusatz. Mittelwert aus 3 mechanisch defibrinierten — und 3 mit Heparin - - - versetzten Blutentnahmen des gleichen Erwachsenenbluts.

Vers. Nr.	<u>3 mechanisch defibrinierte Blutproben</u>			<u>Rückbild. in % Oxy-Hb</u>		
	pH-Werte					
	Anf.- Wert	nach 1 1/2 Std	nach 3 Std	nach 1 1/2 Std	nach 3 Std	
7	7,63	7,56	7,46	19	34	
12	7,50	7,42	7,35	13	29	
14	7,49	7,40	7,34	11	20	
arithmet. Mittel	7,54	7,46	7,38	14	28	

<u>3 Blutproben mit Heparinzusatz</u>					
14	7,57	7,39	7,33	10	18
16	7,56	7,48	7,41	16	32
18	7,58	7,50	7,41	19	38
arithmet. Mittel	7,57	7,46	7,38	15	29

Tab. 4: Zusammenstellung der Meßwerte, die der Abb. 7 zugrunde liegen.

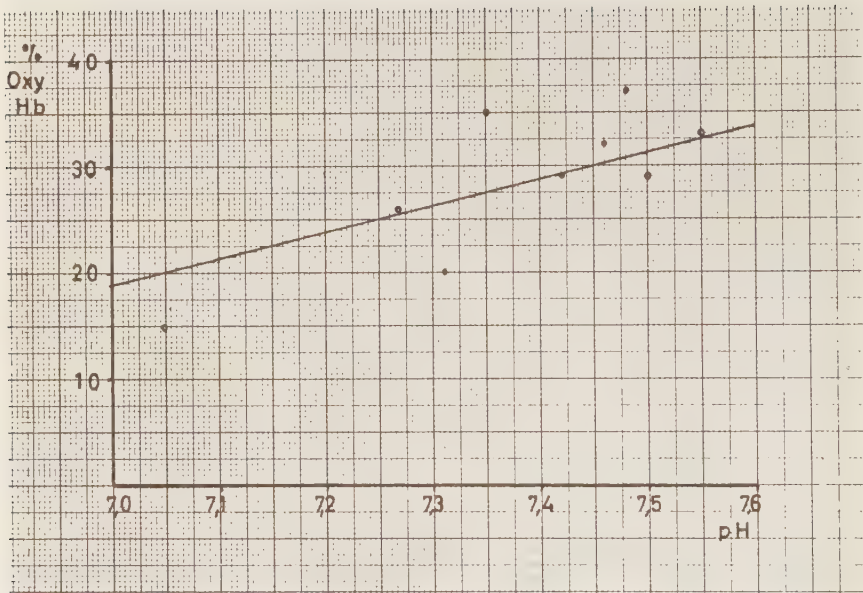


Abb. 8: pH-Verlauf in zwei Reduktionsansätzen des gleichen Erwachsenenblutes. Erythrocyten einmal mit NaCl-Phosphatpuffer pH 7,0 — , zum anderen mit NaCl-Phosphatpuffer pH 7,4 - - - gewaschen, ansonsten gleiche Versuchsbedingungen.

II. Vergleichende Untersuchung über die Methämoglobinreduktion in Nabelschnur- und Erwachsenenerythrocyten

1. Reduktion mit Glucose als Substrat

In den folgenden Abbildungen 9 bis 13 sind die aus unseren vergleichenden Untersuchungen der Methämoglobinreduktion mit Nabelschnur- und Erwachsenenerythrocyten gewonnenen Werte so zusammengestellt, daß die Abhängigkeit der Reduktionsleistung von den jeweiligen pH-Verhältnissen zum Ausdruck kommt. Die Erythrocyten wurden wie unter Ziff. I, 5 dargestellt mit Puffern von verschiedenen pH-Werten gewaschen. Als Substrat diente Glucose.

a) Gesamtergebnisse:

In der Abbildung 9 haben wir unsere sämtlichen Versuchsergebnisse aus den Versuchen mit Glucose als Substrat zusammengestellt. Es sind jeweils die pH-Mittelwerte sowie die mittleren Werte der Reduktionsleistung nach 1 1/2 und 3 Stunden aus 20 Versuchen mit Erwachsenenblut und 16 Versuchen mit Nabelschnurblut errechnet, und aus diesen Werten die Abbildung zusammengestellt worden. Durch senkrechte Linien haben wir gleichzeitig das Ausmaß zwischen vorgefundenen Höchst- und Niedrigstwerten angedeutet. Die zugrundeliegenden Werte sind der Tabelle 5 zu entnehmen.

Dabei stellte sich heraus, daß in der Gesamtheit unserer Versuche die Reduktionsleistung der Nabelschnurerythrocyten etwas geringer war, als die der Erwachsenenerythrocyten, daß aber auch gleichzeitig das pH in den Ansätzen mit Nabelschnurblut generell unter dem des Erwachsenenblutes lag. Um die Abhängigkeit der Methämoglobinreduktion noch einmal graphisch zu verdeutlichen, haben wir in den beiden folgenden Abbildungen unsere Versuchsergebnisse nach bestimmten Gesichtspunkten ausgewählt und zusammengestellt.

In der Abbildung 10 sind die mittleren Reduktions- und pH-Werte aus den 7 Erwachsenenblutsuspensionen mit dem höchsten pH und den 7 Nabelschnurblutsuspensionen mit dem niedrigsten pH gegenübergestellt. Wie aus der Abbildung ersichtlich ist, wird bei Vergrößerung der pH-Unterschiede auch der Unterschied in der Reduktionsleistung in gleichem Maße größer.

Für eine weitere Gegenüberstellung haben wir dann umgekehrt die Mittelwerte aus den 7 Erwachsenenblutsuspensionen mit dem niedrigsten pH und den 7 Nabelschnurblutsuspensionen mit dem höchsten pH ermittelt und diese in der Abbildung 11 gegenübergestellt. Daraus ist ersichtlich, daß hier die Reduktionsleistung der Nabelschnurerythrocyten über der der Erwachsenenerythrocyten liegt, und zwar in dem Maße, wie es auch auf Grund der unterschiedlichen pH-Verhältnisse zu erwarten war. Die Meßwerte für die Abbildungen 10 und 11 sind in den Tabellen 6 und 7 zusammengestellt.

b) bei annähernd gleichen pH-Werten

Aus unserem Bemühen, die pH-Verhältnisse der Erwachsenen- und Nabelschnurblutproben in unseren Versuchen einander anzugleichen, sind eine Reihe von Versuchen entsprungen, in denen wir die Reduktion unter nahezu gleichen pH-Verhältnissen beobachten konnten. In der Abbildung 12 sind die jeweiligen Mittelwerte aus diesen Versuchen mit 7 Erwachsenen- und 7 Nabelschnurbluten verwertet, in denen die pH-Werte für beide Blute annähernd gleich waren. Wie aus der Abbildung ersichtlich wurden unter diesen Bedingungen auch gleiche Reduktionsleistungen sowohl von den Erwachsenen- als auch Nabelschnurerythrocyten erzielt. Die Meßwerte aus diesen Versuchen sind in Tabelle 8 zusammengestellt.

c) Beziehungen zwischen dem pH und der Reduktionsleistung

In einem weiteren Diagramm haben wir nach Art unserer Abbildung 3, in der wir die Abhängigkeit der Methämoglobinreduktion vom jeweiligen mittleren pH-Wert der verschiedenen Versuchsansätze des gleichen Erwachsenenblutes in Beziehung gesetzt haben, in der Abbildung 13 in gleicher Weise die Werte sämtlicher vergleichender Versuche zwischen Erwachsenen- und Nabelschnurblut mit Glucose als Substrat aufgetragen und Korrelation und Regression dieser Zusammenhänge berechnet.⁺⁾

Dabei stellte sich heraus, daß die Regressionsgeraden sowohl für Erwachsenenblut wie für Nabelschnurblut dicht beieinander liegen. Die Regressionsgerade für die Erwachsenenblute (in der Abb. als durchgezogene Linie dargestellt) hat die Steigung $b_x = 28$ und schneidet den Punkt $\bar{x}/\bar{y}$ 7,36/26 (in der Abb. als o dargestellt). Die Regressionsgerade für die Nabelschnurblute (in der Abb. als durchbrochene Linie dargestellt) hat die Steigung $b_x = 29$ und schneidet den Punkt $\bar{x}/\bar{y}$ 7,24/22 (in der Abb. als Δ dargestellt). Der Korrelationskoeffizient für Erwachsenenblut ist $r = 0,572$ entsprechend $r^2 = 0,328$. Der Korrelationskoeffizient für Nabelschnurblut ist $r = 0,566$ entsprechend $r^2 = 0,320$. Das bedeutet also, daß sowohl für Erwachsenen- wie für Nabelschnurblut ein gleichsinniger Zusammenhang zwischen pH und Reduktionsleistung besteht und dieser Zusammenhang für beide Blute in annähernd gleichem Maße gegeben ist, da ja die Werte für r bei beiden Bluten nur geringfügig differieren. Da die r^2 -Werte bis auf vernachlässigbar geringe Unterschiede für beide Blute gleich sind, bedeutet das, daß sowohl für Erwachse-

^{+) Ich danke Herrn Dr. med. WEIDTMANN, Kustos an der Universitätskinderklinik Köln (Direktor: Prof. Dr. med. BENNHOLDT-THOMSEN) für die Unterstützung bei der Berechnung.}

nen- als auch für Nabelschnurblut, also für beide Blute in gleichem Maße, ca. 32% der gesamten Varianz des gemessenen Methämoglobinreduktionsvermögens auf der Änderung der pH-Werte beruhen, also auch in dieser Beziehung das Verhalten beider Blute gleich ist.

2. Reduktion mit Lactat als Substrat

Da wir aus unseren vergleichenden Untersuchungen mit Glucose als Substrat gesehen hatten, daß es hier entgegen den Befunden einiger früheren Untersucher, praktisch keine nennenswerten Unterschiede in den Reduktionsleistungen von Erwachsenen- und Nabelschnurerythrocyten gibt, sondern diese allein auf unterschiedliche pH-Werte zu beziehen sind, wollten wir untersuchen, ob die gleichen Beobachtungen eventuell auch bei Untersuchungen mit Lactat als Substrat zu machen sind.

Mit unserer bewährten Technik gelang es uns, auch für diese Versuche das pH der Erwachsenen- und Nabelschnurerythrocyten einander so zu nähern, daß in beiden Ansätzen im Durchschnitt fast die gleichen pH-Verhältnisse herrschten.

Die Abbildung 14 gibt einen Überblick über die Reduktionsleistung in 4 Versuchen von Erwachsenen- und Nabelschnurblut mit Lactat als Substrat und unter fast gleichen pH-Verhältnissen. Daraus geht hervor, daß mit Lactat als Substrat die Reduktionsleistung der Erwachsenenerythrocyten in unseren Versuchen um annähernd 20% über der der Nabelschnurerythrocyten liegt, wobei gleiche pH-Verhältnisse vorausgesetzt sind.

Die Meßwerte unserer Versuche mit Lactat als Substrat sind der Tabelle 9 zu entnehmen.

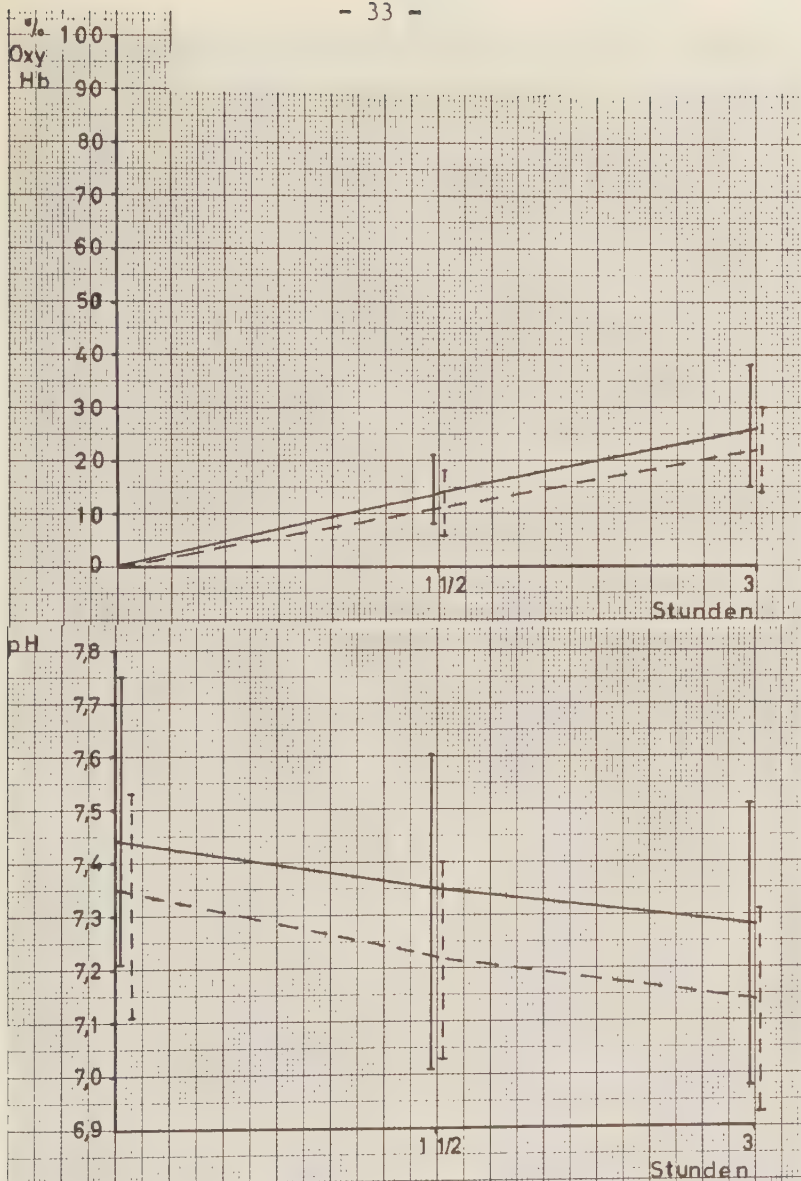


Abb. 9: Gesamtergebnisse der Reduktionsleistung (oben) und pH-Verhältnisse (unten) aus Versuchen an 20 Erwachsenen — und 16 Nabelschnurbluten - - -. Die Senkrechten geben die Streubereiche an. Untersuchungen mit Glucose als Substrat. Die zugrunde liegenden Werte befinden sich in Tab. 5.

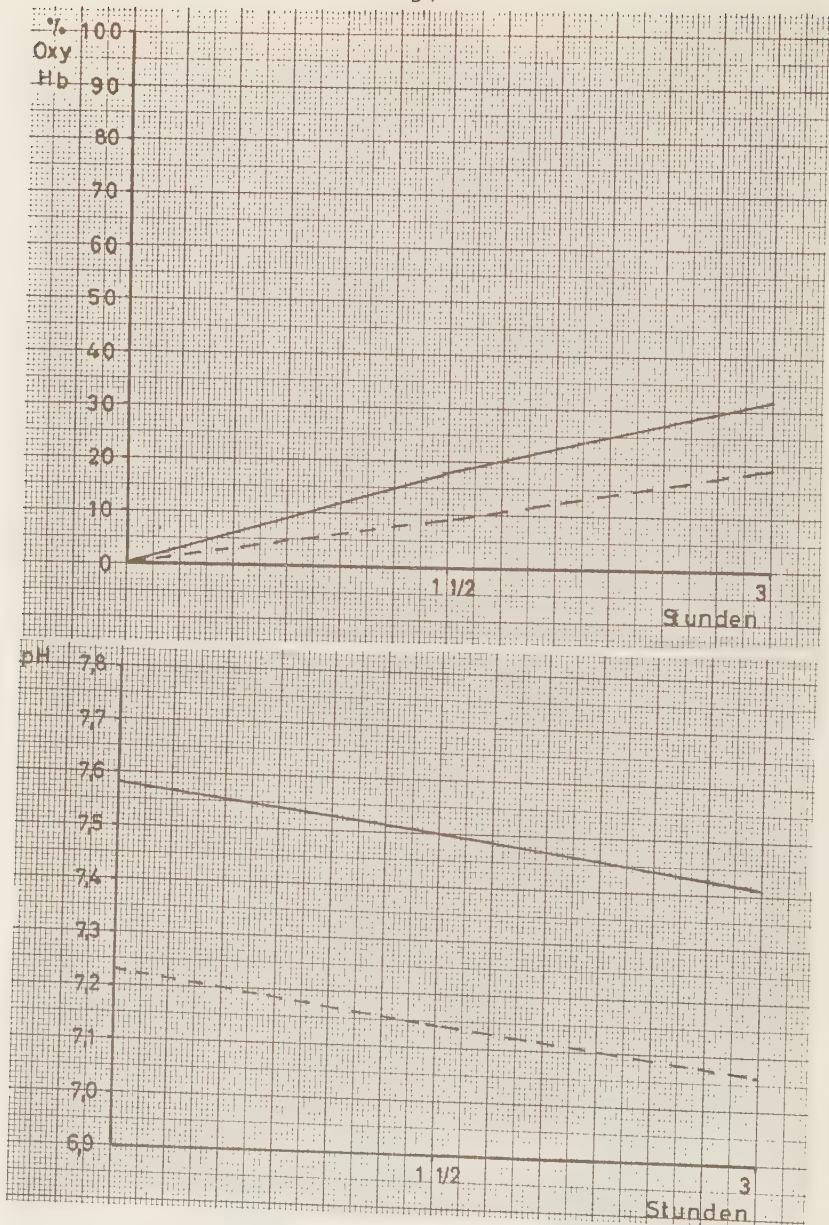


Abb. 10: Ergebnisse der Reduktionsleistungen und pH-Verhältnisse aus 7 Erwachsenen- — mit hohem pH und 7 Nabelschnurbluten - - - mit niederm pH. Meßwerte sind der Tab. 6 zu entnehmen.

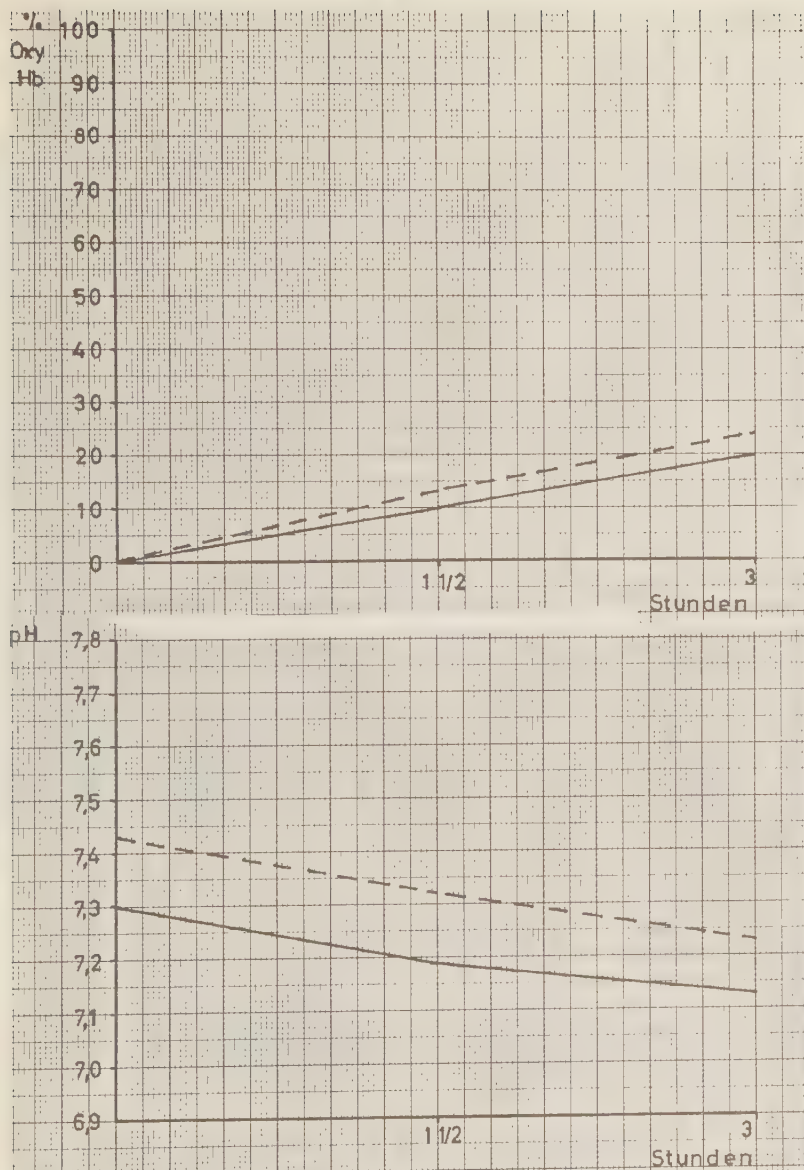


Abb. 11: Ergebnisse der Reduktionsleistungen und pH-Verhältnisse aus 7 Erwachsenen- — mit niedrigerem pH und 7 Nabelschnurbluten - - - mit hohem pH. Meßwerte in Tab. 7.

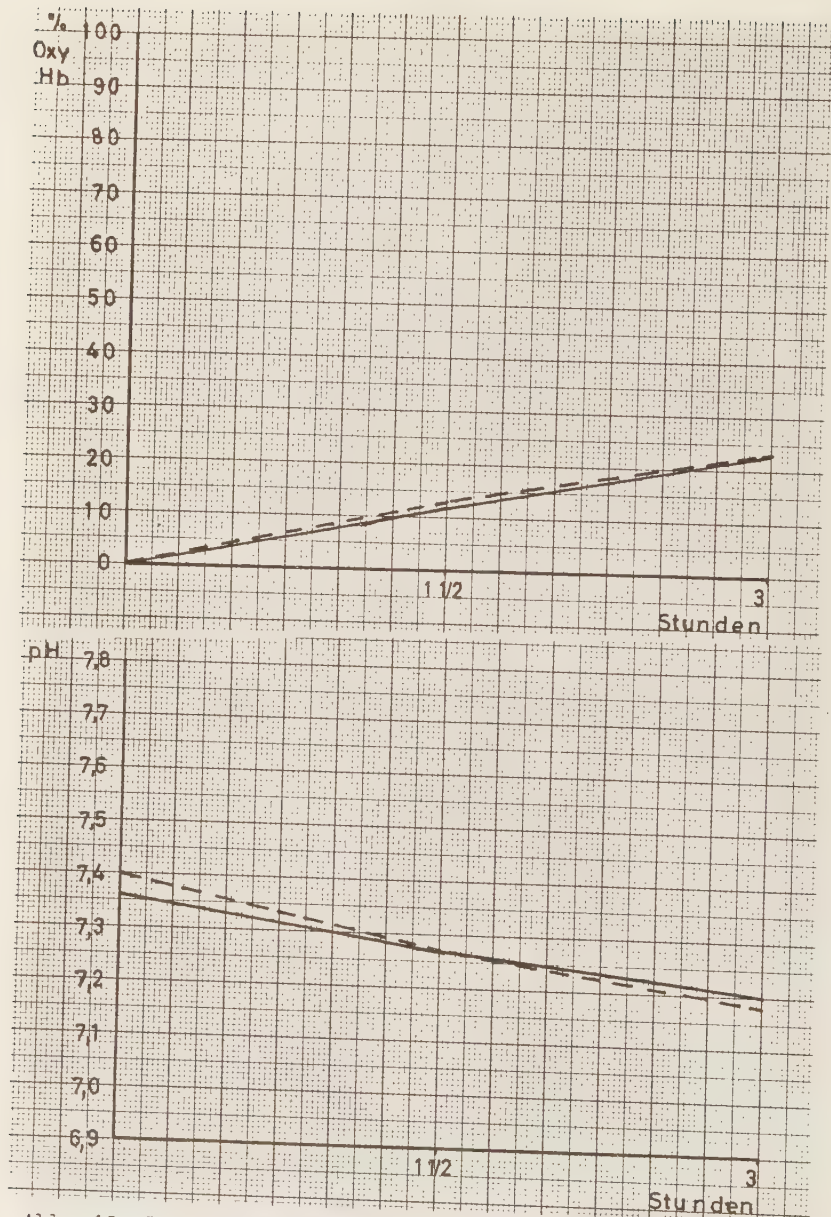


Abb. 12: Ergebnisse der Reduktionsleistung und der pH-Verhältnisse aus 7 Erwachsenen- — und 7 Nabelschnurbluten - - - bei gleich hohen pH-Werten in beiden Bluten. Meßwerte in Tab. 8.

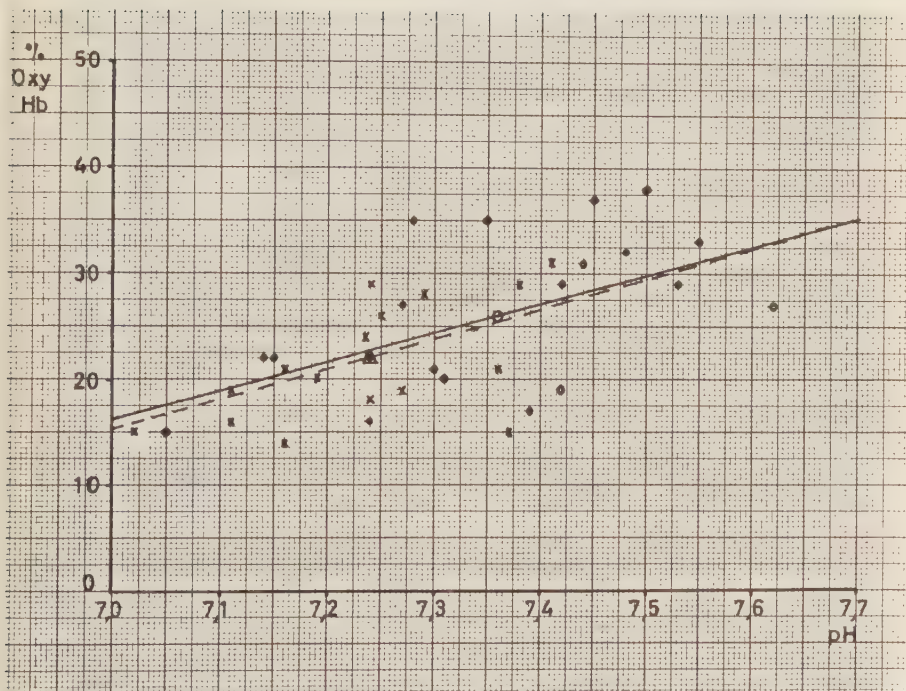


Abb. 13: Reduktionsleistung nach 3 Std. von 20 Erwachsenen- o und 16 Nabelschnurbluten + in Abhängigkeit vom jeweils errechneten mittleren pH-Wert.
 — Regressionsgerade aus 20 Versuchen mit Erwachsenenblut
 - - Regressionsgerade aus 16 Versuchen mit Nabelschnurblut
 Untersuchungen mit Glucose als Substrat.
 Die der Abb. zugrunde liegenden Werte sind der Tab. 5 zu entnehmen.

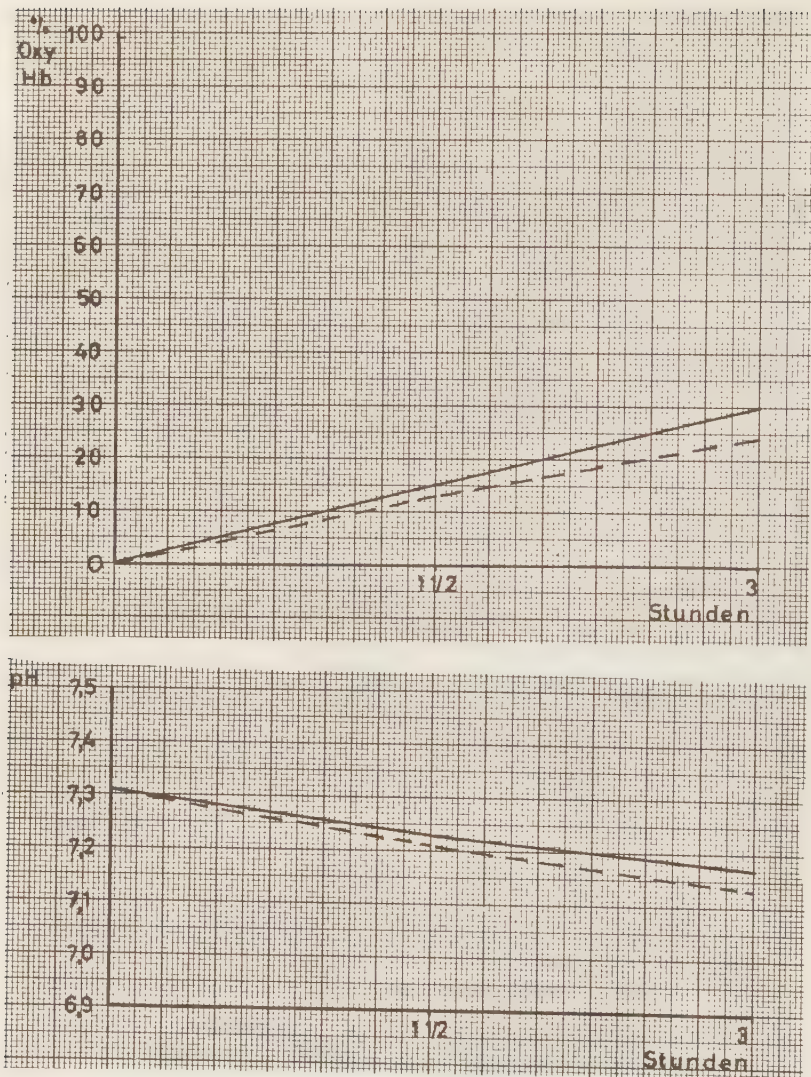


Abb. 14: Zusammenstellung der Ergebnisse der Reduktionsleistung (oben) und der pH-Verhältnisse (unten) in 4 Erwachsenen— und 4 Nabelschnurbluten - - mit L a c t a t als Substrat. Die zugrunde liegenden Werte befinden sich in Tab. 9.

20 Erwachsenenblute mit Glucose als Substrat

Vers. Nr.	Ausg.- Wert	pH-Werte			mittl. pH-Wert	Met-Hb-Red.		
		nach 1 1/2 Std	nach 3 Std	nach 3 Std		nach 1 1/2 Std	nach 3 Std	nach 3 Std
7	7,75	7,60	7,51	7,62	14	27		
7	7,63	7,56	7,46	7,55	19	33		
9	7,34	7,27	7,19	7,27	13	27		
10	7,35	7,27	7,22	7,28	19	35		
10	7,54	7,45	7,36	7,45	21	37		
12	7,50	7,42	7,35	7,42	13	29		
13	7,48	7,41	7,36	7,42	11	19		
15	7,46	7,38	7,33	7,39	9	17		
16	7,56	7,48	7,41	7,48	16	32		
18	7,58	7,50	7,41	7,50	19	38		
19	7,58	7,49	7,44	7,53	19	29		
19	7,31	7,23	7,18	7,24	11	16		
20	7,44	7,35	7,26	7,35	21	35		
21	7,50	7,45	7,36	7,44	18	31		
22	7,21	7,16	7,07	7,15	10	22		
23	7,17	7,01	6,98	7,05	8	15		
23	7,44	7,26	7,23	7,31	10	20		
25	7,40	7,29	7,20	7,30	11	21		
26	7,23	7,13	7,07	7,14	13	22		
27	7,34	7,23	7,15	7,24	10	22		
arithm.								
Mittel	7,44	7,35	7,28	7,36	14	26		
=====								

Tab. 5

16 Nabelschnurblute mit Glucose als Substrat

Vers. Nr.	Ausg.- Wert	pH-Werte		mittl. pH-Wert	Met-Hb-Red.	
		nach 1 1/2 Std	nach 3 Std		nach 1 1/2 Std	nach 3 Std
9	7,24	7,14	7,11	7,16	10	21
12	7,36	7,26	7,18	7,27	9	19
13	7,32	7,23	7,17	7,24	9	18
15	7,47	7,37	7,28	7,37	8	15
16	7,49	7,38	7,27	7,38	15	29
17	7,45	7,35	7,28	7,36	12	21
17	7,26	7,15	7,08	7,16	7	14
18	7,32	7,24	7,15	7,24	15	29
20	7,52	7,24	7,12	7,29	16	28
21	7,53	7,40	7,31	7,41	18	31
22	7,11	7,03	6,93	7,02	6	15
24	7,19	7,11	7,03	7,11	9	16
24	7,29	7,18	7,10	7,19	11	20
25	7,42	7,25	7,12	7,23	14	24
26	7,38	7,22	7,15	7,25	16	26
29	7,21	7,11	7,01	7,11	8	19
arithm.						
Mittel 7,35		7,22	7,14	7,24	11	22
=====						

Tab. 5: Zusammenstellung der Meßwerte aus 20 Erwachsenen- und 16 Nabelschnurblut-Untersuchungen mit Glucose als Substrat.

pH in Erw.-Blut höher als in NS-Blut

Vers. Nr.	Ausg.- Wert	pH-Werte		Met-Hb-Red.	
		nach 1 1/2 Std	nach 3 Std	nach 1 1/2 Std	nach 3 Std
<u>7 Erw.-Blute</u>					
7	7,75	7,60	7,51	14	27
7	7,63	7,56	7,46	19	33
10	7,54	7,45	7,36	21	37
12	7,50	7,42	7,35	13	29
18	7,58	7,50	7,41	19	38
19	7,58	7,49	7,44	19	29
21	7,50	7,45	7,36	18	31
Mittelw.	7,58	7,50	7,41	18	32
<u>7 NS-Blute</u>					
9	7,24	7,14	7,11	10	21
17	7,26	7,15	7,08	7	14
18	7,32	7,24	7,15	15	29
22	7,11	7,03	6,93	6	15
24	7,19	7,11	7,03	9	16
24	7,29	7,18	7,10	11	20
29	7,21	7,11	7,01	8	19
Mittelw.	7,23	7,14	7,06	9	19

Tab. 6: Werte der Abb. 10

pH in NS-Blut höher als in Erw.-Blut

Vers. Nr.	Ausg.- Wert	pH-Werte		Met-Hb-Red.	
		nach 1 1/2 Std	nach 3 Std	nach 1 1/2 Std	nach 3 Std
	<u>7 Erw.-Blute</u>				
19	7,31	7,23	7,18	11	16
22	7,21	7,16	7,07	10	22
23	7,17	7,01	6,98	8	15
23	7,44	7,26	7,23	10	20
25	7,40	7,29	7,20	11	21
26	7,23	7,13	7,07	13	22
27	7,34	7,23	7,15	10	22
Mittelw.	7,30	7,19	7,13	10	20

<u>7 NS-Blute</u>					
12	7,36	7,26	7,18	9	19
15	7,47	7,37	7,28	8	15
16	7,49	7,38	7,27	15	29
17	7,45	7,35	7,28	12	21
18	7,32	7,24	7,15	15	29
21	7,53	7,40	7,31	18	31
26	7,38	7,22	7,15	16	26
Mittelw.	7,43	7,32	7,23	13	24

Tab. 7: Werte der Abb. 11

pH in Erw.-Blut und NS-Blut annähernd gleich

Vers. Nr.	Ausg.- Wert	pH-Werte		Met-Hb-Red.	
		nach 1 1/2 Std	nach 3 Std	nach 1 1/2 Std	nach 3 Std
7 Erw.-Blute					
15	7,46	7,38	7,33	9	17
16	7,56	7,48	7,41	16	32
21	7,50	7,45	7,36	18	31
22	7,21	7,16	7,07	10	22
23	7,17	7,01	6,98	8	15
25	7,40	7,29	7,20	11	21
26	7,23	7,13	7,07	13	22
Mittelw.	7,36	7,27	7,20	12	23

<u>7 NS-Blute</u>					
15	7,47	7,37	7,28	8	15
16	7,49	7,38	7,27	15	29
21	7,53	7,40	7,31	18	31
24	7,19	7,11	7,03	9	16
24	7,29	7,18	7,10	11	20
25	7,42	7,25	7,12	14	24
26	7,38	7,22	7,15	16	26
Mittelw.	7,40	7,27	7,18	13	23

Tab. 8: Werte der Abb. 12

Versuche mit Lactat als Substrat

Vers. Nr.	Ausg.- Wert	pH-Werte		Met-Hb-Red.	
		nach 1 1/2 Std	nach 3 Std	nach 1 1/2 Std	nach 3 Std
27 Erw.	7,34	7,26	7,21	13	29
28 Erw.	7,31	7,26	7,23	15	26
30 Erw.	7,34	7,27	7,22	13	30
31 Erw.	7,25	7,13	7,03	18	36
Mittelw.	7,31	7,23	7,17	15	30
=====					
28 NS.	7,30	7,23	7,18	13	22
29 NS.	7,21	7,16	7,10	12	21
30 NS.	7,41	7,32	7,27	12	22
31 NS.	7,30	7,12	6,95	15	30
Mittelw.	7,31	7,21	7,13	13	24
=====					

Tab. 9: Werte aus je 4 Erw.- und NS-Blutversuchen mit Lactat als Substrat.

D. B E S P R E C H U N G

=====

In der vorliegenden Arbeit wurde die Methämoglobinreduktionsleistung in Erwachsenen- und Nabelschnurerythrocyten miteinander verglichen und dabei besonders das pH in den Versuchsansätzen berücksichtigt. Frühere Untersucher hatten zu dieser Frage zum Teil widersprüchliche Ergebnisse erhalten.

Nachdem erstmals KÜNZER und SAVELSBERG auf einen erhöhten Methämoglobingehalt im Säuglingsblut hingewiesen hatten, stellten andere Untersucher wie KÜNZER und SCHNEIDER; BETKE; LÖHR und WALLER; MAAS; McDONALD und HUISMANN; OSTER; ROSS sowie ROSS und DESFORGES eine signifikant erniedrigte Methämoglobinreduktionsleistung in Nabelschnurerythrocyten gegenüber Erythrocyten Erwachsener fest, für deren Zustandekommen man die verschiedensten Erklärungen angeführt hatte.

Bei Untersuchungen der Methämoglobinreduktion in Tierversuchen hatte man Species- und Altersunterschiede der Rückbildungsleistung entdeckt, für deren Zustandekommen man überwiegend verschiedene Arten und Konzentrationen der Fermentsysteme, also jeweils unterschiedliche Substratbedürfnisse, wahrscheinlich machen konnte (67,128). So bilden die Milchsäure verwertenden Tiere (Kaninchen, Meerschweinchen, Ratte) rascher Methämoglobin zurück, als die Glucose benötigenden (Hund, Katze, Pferd) (69,103). Für die selten vorkommende rezessiv vererbte kongenitale Methämoglobinämie beim Menschen konnte GIBSON eindeutig einen Enzymmangel nachweisen (46).

So lag es nahe, die verminderte Rückbildungsfähigkeit des Nabelschnurblutes gegenüber dem Erwachsenenblut in gleicher Weise mit einer verminderten Fermentaktivität zu erklären. Da gezeigt werden konnte, daß es für den Nachweis der verminderten Reduktionsleistung in Nabel-

schnurerythrocyten gleichgültig ist, ob Glucose, Lactat oder Formaldehyd als Substrat gewählt wird (87,96), war anzunehmen, daß die Ursache für die verminderte Reduktionsleistung auf der allen Substraten gemeinsamen letzten Strecke der Reduktion, der Wasserstoffübertragung von NADH_2 auf das Methämoglobin, zu suchen sei.

Dieser Frage ging GÄRTNER dann nach und fand in seinen Untersuchungen eine signifikant erniedrigte Aktivität des Flavinenzyms Diaphorase im Nabelschnurblut gegenüber dem Blut Erwachsener. Die Reduktionsminderleistung des Nabelschnurblutes betrug in seinen Untersuchungen ca $2/3$ der Leistung des Erwachsenenblutes. GÄRTNER hatte seine Untersuchungen zum Nachweis der Diaphoraseaktivität an Hämolysaten und mit Lactat als Substrat durchgeführt. Im Reduktionstest an dem gleichen Erwachsenenmethämoglobin, stammend von einer Patientin mit kongenitaler enzymopenischer Methämoglobinämie konnte er beweisen, daß die Minderleistung nicht etwa dadurch vorgetäuscht war, daß das Methämoglobin im Nabelschnurblut möglicherweise schwerer zu reduzieren ist. Denn auch hier beim Vorliegen des gleichen Methämoglobin betrug die Minderleistung im Nabelschnurhämolysat nur $2/3$ der Reduktionsleistung im Erwachsenenhämolysat (43).

Eine Besonderheit war allerdings schon früheren Untersuchern aufgefallen, nämlich daß die Reduktionsminderleistung im Nabelschnurblut, ermittelt an intakten Erythrocyten mit Glucose als Substrat nicht so ausgesprochen war, wie mit Lactat als Substrat. Mit Glucose als Substrat war die Streuung der Werte so groß, daß die Differenzen in der Reduktionsleistung unsicher waren (17).

Damit näherten sich die Ergebnisse der Untersuchungen mit Glucose als Substrat den Untersuchungen von THAL und LACHHEIN und LACHHEIN und NAUMANN, die mit Glucose als Substrat unter Ascorbinsäurezusatz und unter CO-Atmos-

phäre keine Differenzen in der Reduktionsleistung von Nabelschnur- und Erwachsenenerythrocyten finden konnten (21,122). Zum gleichen Ergebnis kam auch KLEIHAUER im in-vitro-Reduktionstest an intakten Zellen unter Glucosezusatz als Substrat (72).

Nach den Ergebnissen im Diaphorasetest (17,43) wäre zu erwarten gewesen, daß auch im in-vitro-Test an intakten Erythrocyten unterschiedliche Reduktionsleistungen in Nabelschnur- und Erwachsenenerythrocyten ermittelt würden. Wie aber aus unseren in dieser Arbeit vorliegenden Versuchen hervorgeht, konnten wir mit Glucose als Substrat praktisch keine Unterschiede in der Reduktionsleistung von Erwachsenen- und Nabelschnurerythrocyten feststellen.

Wir führen unser Ergebnis darauf zurück, daß wir die vergleichenden Untersuchungen der Methämoglobinreduktion unter jeweils gleichen pH-Verhältnissen sowohl in den Nabelschnur- wie in den Erwachsenenblutsuspensionen durchgeführt haben. Daß frühere Untersucher hier zum Teil zu von den unsrigen abweichenden Ergebnissen gekommen sind, läßt sich nach unserer Meinung nur damit erklären, daß in deren zu vergleichenden Suspensionen zur Untersuchung der Reduktionsleistung wahrscheinlich unterschiedliche pH-Verhältnisse geherrscht haben, und die Reduktionsleistung dann auch entsprechend ihrer Abhängigkeit vom pH in den Nabelschnurerythrocyten erniedrigte Werte zeigte. Ebenso neigen wir zu der Annahme, daß auch die schon von früheren Untersuchern bei Versuchen mit Glucose als Substrat beobachteten großen Schwankungsbereiche (17) hauptsächlich auf pH-Differenzen zurückzuführen sind; denn wir fanden in unseren Versuchen oft erhebliche pH-Unterschiede in den zu untersuchenden Suspensionen und dementsprechend auch eine große Schwankungsbreite in der Reduktionsleistung.

Im Gegensatz zu unseren Versuchen mit Glucose als Substrat fanden wir in unseren Untersuchungen mit Lactat als Substrat zwar gegenüber der Glucose sowohl in Nabelschnur- als auch in Erwachsenenerythrocyten erhöhte Reduktionsleistungen, aber doch eine deutliche Differenz zwischen der Leistung der Erwachsenen- und Nabelschnurerythrocyten. Wir erzielten damit zwar unterschiedliche Reduktionsleistungen in Nabelschnur- und Erwachsenenerythrocyten, wie es nach den Untersuchungen GÄRTNERS im Diaphorasetest auch zu erwarten gewesen war, jedoch bestanden diese Unterschiede nur noch in geringem Maße. In unseren Versuchen betrug die Minderleistung der Nabelschnurerythrocyten gegenüber der Reduktionsleistung der Erwachsenenerythrocyten etwa $\frac{4}{5}$ bis $\frac{5}{6}$. Im Diaphorasetest hatte sie $\frac{2}{3}$ betragen (17,43), und in Untersuchungen KLEIHAUERS an intakten Erythrocyten ebenfalls mit Lactat als Substrat $\frac{3}{5}$ bis $\frac{2}{3}$.

Für die Reduktion mit Lactat bestätigen die eigenen Untersuchungen eine Minderleistung des Nabelschnurblutes, die nicht durch einen pH-Unterschied vorgetäuscht ist. Allerdings bestand der Unterschied zwischen den Reduktionsleistungen der beiden Blute nicht mehr in dem Ausmaß, wie er zum Teil von früheren Untersuchern berichtet wird. Dies dürfte sich, in Analogie zu den Untersuchungen mit Glucose, aus der Eliminierung von pH-Unterschieden in den eigenen Untersuchungen erklären.

Aus unseren Versuchen läßt sich schließen, daß im in-vitro-Reduktionstest an intakten Zellen und mit Glucose als Substrat die Reduktionsleistungen von Nabelschnur- und Erwachsenenerythrocyten bei Vorliegen gleicher pH-Werte gleich groß sind und die Abweichung von den Ergebnissen früherer Untersucher ihre Erklärung in pH-Unterschieden in den Suspensionen von Nabelschnur- und Erwachsenenerythrocyten findet.

Andererseits legt der Diaphorasetest doch eine Minderleistung des Reduktionssystems im letzten Schritt nahe. Außerdem stellte sich im Versuch mit Lactat als Substrat eine pH-unabhängige Minderleistung von Nabelschnurerythrocyten heraus. Als Erklärung für diese letzte Diskrepanz könnte sich theoretisch die folgende Überlegung anbieten: Die GSH-abhängige Reduktionsleistung in Erythrocyten, deren Anteil nach SCOTT 12% betragen soll, könnte zum Tragen kommen, wenn Glucose vorhanden ist. Wie TJOA (124) berichtet, ist Glutathion in Neugeborenenerythrocyten dann instabil, wenn keine Glucose vorhanden ist. Auf unsere Versuche angewandt würde das bedeuten, daß einerseits in unseren Versuchen mit Glucose als Substrat die GSH-abhängige Methämoglobinreduktion sowohl in Nabelschnur- als auch Erwachsenenerythrocyten gleichermaßen funktioniert und deswegen in beiden Bluten auch gleiche Reduktionsleistungen gemessen werden, daß andererseits aber in unseren Versuchen mit Lactat als Substrat infolge des Glucosemangels GSH in den Nabelschnurerythrocyten schneller inaktiv wird und die GSH-abhängige Methämoglobinreduktion in den Nabelschnurerythrocyten entfällt, während sie in den Erwachsenenerythrocyten in vollem Umfang erhalten bleibt. Dadurch könnten dann die Unterschiede in der Reduktionsleistung im in-vitro-Test zwischen Nabelschnur- und Erwachsenenerythrocyten mit Lactat als Substrat zustande kommen. Allerdings trifft diese theoretische Auslegung insoweit als alleinige Erklärung der Unterschiede in den Reduktionsleistungen nicht zu, als sie rein rechnerisch dann im Nabelschnurblut mindestens noch $\frac{7}{8}$ der Reduktionsleistung im Erwachsenenblut betragen müßte, während wir in unseren Versuchen mit Lactat als Substrat eine Minderleistung von nur $\frac{4}{5}$ bis $\frac{5}{6}$ der Leistung im Erwachsenenblut gemessen haben.

Eine Erklärung der Diskrepanz zwischen den eigenen Untersuchungen und den Ergebnissen des Diaphorasetests nach GÄRTNER steht noch aus. Notwendig wäre eine Reproduktion der Versuche GÄRTNERS unter genauer pH-Kontrolle, da die Pufferung des Ansatzes nicht unbedingt bedeutet, daß auch tatsächlich gleiche pH-Verhältnisse während des Reduktionsablaufs vorlagen. Außerdem können im intakten Erythrocyten noch unbekannte Mechanismen im Spiel sein, denen man durch schrittweise Analyse versuchen sollte, näher zu kommen.

E. ZUSAMMENFASSUNG

=====

In Versuchen an menschlichen Erwachsenen- und Nabelschnurerythrocyten wurde in vitro deren Methämoglobinreduktionsvermögen mit Glucose und Lactat als Substrat unter besonderer Berücksichtigung der pH-Abhängigkeit untersucht.

Dabei stellte sich folgendes heraus:

1. Es besteht eine deutliche Abhängigkeit der Reduktionsleistung vom pH. In saurem Milieu wird die Reduktion verlangsamt, während sie in alkalischem Milieu beschleunigt wird.
2. Die unterschiedlichen Reduktionsleistungen zwischen Nabelschnur- und Erwachsenenerythrocyten, die von früheren Untersuchern mit Glucose als Substrat ermittelt wurden, sind auf pH-Unterschiede zu beziehen. Das pH in Erythrocytensuspensionen der Nabelschnurblute liegt generell unter dem des Erwachsenenblutes, wodurch die Reduktionsgeschwindigkeit verlangsamt wird.
3. Bei gleichen pH-Verhältnissen sind die Reduktionsleistungen der Nabelschnur- und Erwachsenenerythrocyten mit G l u c o s e a l s S u b s t r a t g l e i c h groß.
4. Die Reduktionsleistungen von Nabelschnur- und Erwachsenenerythrocyten sind unter gleichen pH-Verhältnissen mit L a c t a t a l s S u b s t r a t u n t e r s c h i e d l i c h groß. Die Reduktionsleistung der Nabelschnurerythrocyten beträgt etwa $\frac{4}{5}$ bis $\frac{5}{6}$ der Leistung der Erwachsenenerythrocyten.

F. L I T E R A T U R

=====

- 1) AEBI, H.; J.P. HEINIGER und H. SUTER:
Methämoglobinbildung durch Röntgenstrahlen in normalen und katalasefreien Erythrocyten des Menschen. *Experientia* 18, 129 (1962)
- 2) ALTMAN, K.I.:
The reduction of methemoglobin by a reductase isolated from Brewer's Yeast.
Biochem. et Biophys. Acta (Amsterd.) 15, 155 (1954)
- 3) AUSTIN, J.H., and D.L. DRABKIN:
Spectrometric studies: III. Methemoglobin.
J. biol. Chem. 112, 67 (1935/36)
- 4) BARCROFT, J.:
Die Atmungsfunktion des Blutes
Deutsche Übersetzung von W. FELDBERG, Berlin 1927
- 5) BASS, C.:
Fermentative Oxydation des Blutfarbstoffs zu Methämoglobin durch Phenylhydroxylamin in Erythrocyten von Erwachsenen, jungen Säuglingen und Kleinkindern mit hypochromen Anämien.
Diss. Freiburg 1958
- 6) BASS, C., K. BETKE und E. KLEIHAUER:
Vergleichende Untersuchung der katalytischen Oxydation von Blutfarbstoff durch Phenylhydroxylamin in normochromen und hypochromen Erythrocyten.
Klin. Wschr. 36, 188 (1958)
- 7) BETKE, K.:
Vergleichende Messung der Oxydationsgeschwindigkeiten von fetalem und Erwachsenen-Hämoglobin zu Hämoglobin durch Kaliumferricyanid.
Naturwissenschaft. 39, 481 (1952)
- 8) BETKE, K.:
Vergleichende Messung der Oxydation von fetalem und Erwachsenen-Hämoglobin durch Natriumnitrit.
Naturwissenschaft. 40, 60 (1953)
- 9) BETKE, K.:
Vergleichende Untersuchung der Reduktion und Sauerstoffdissoziation bei fetalem und Erwachsenen-Blutfarbstoff.
Klin. Wschr. 31, 573 (1953)

- 10) BETKE, K.:
Der menschliche rote Blutfarbstoff bei Fetus und
reifem Organismus.
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1954
- 11) BETKE, K., W. ALBRECHT, E. KLEIHAUER und D. OSTER:
Fermentative Reduktion und Oxydation des Blutfarb-
stoffs in Erwachsenen- und Säuglingserythrocyten.
V. Kongr. Euro. Ges. Hämatol. Freiburg 1955
- 12) BETKE, K., A. BALTZ, E. KLEIHAUER und F. SCHOLZ:
Methämoglobingehalt, Methämoglobinreduktion und
Sauerstoffverbrauch in jungen und alten Erythro-
cyten.
Blut 4, 203 (1960)
- 13) BETKE, K., A. BALTZ und U. MAAS:
Utilisation von Galactose durch Erythrocyten
menschlicher Neugeborener.
Z. Kinderhk. 84, 226 (1960)
- 14) BETKE, K., J. GREINACHER und F. HECKER:
Oxydation menschlicher und tierischer Oxyhämoglo-
bine durch Kaliumferricyanid.
Arch. exper. Path. Pharmacol. 229, 207 (1956)
- 15) BETKE, K., J. GREINACHER und O. TIETZE:
Oxydation menschlicher und tierischer Oxyhämoglo-
bine durch Natriumnitrit.
Arch. exper. Path. Pharmacol. 229, 220 (1956)
- 16) BETKE, K. und E. KLEIHAUER:
Nitrathaltiges Leitungswasser als Ursache einer
Methämoglobinämie.
Dtsch. Med. Wschr. 82, 1127 (1957)
- 17) BETKE, K., E. KLEIHAUER, CH. GÄRTNER und G. SCHIEBE:
Verminderung von Methämoglobinreduktion, Diaphora-
seaktivität und Flavinen in Erythrocyten junger
Säuglinge.
Arch. Kinderhk. 170, 66 (1964)
- 18) BETKE, K., E. KLEIHAUER und M. LIPPS:
Vergleichende Untersuchungen über die Spontanoxy-
dation von Nabelschnur- und Erwachsenenämoglobin.
Z. Kinderhk. 77, 549 (1956)
- 19) BETKE, K., E. KLEIHAUER, D. OSTER und I. SCHLICHT:
Methämoglobinreduktion als Stoffwechselleistung
roter Zellen bei normalen und anämischen Säuglingen
und Kleinkindern.
Z. Kinderhk. 80, 54 (1957)

- 20) BETKE, K., und H. RAU:
Zur Frage der Neigung junger Säuglinge an Methämoglobinämien zu erkranken.
Arch. Kinderhk. 145, 195 (1952)
- 21) BETKE, K. und W. SAVELSBERG:
Stufenphotometrische Hämoglobinbestimmung mittels Cyanhämglobin.
Biochem. Z. 320, 431 (1950)
- 22) BETKE, K., H. STEIN und O. TÖNZ:
Untersuchung einer Familie mit kongenitaler Methämoglobinämie durch Reduktionsinsuffizienz.
Dtsch. Med. Wschr. 87, 65 (1962)
- 23) BETKE, K. und H. SCHALL:
Empfindlichkeit von Hämoglobin A,S,C und F gegenüber Oxydation zu Methämoglobin.
Proc. 7th Congr. Europ. Soc. Haemat, London 1959
p 1073 (Karger, Basel-New-York 1960)
- 24) BEUTLER, E. and B.J. MIKUS:
The effect of methemoglobin formation in sickle cell disease.
J. clin. Invest. 40, 1857 (1961)
- 25) BEUTLER, E. and B.A. KELLY:
The effect of sodium nitrite on red cell GSH.
Experientia 19, 26 (1963)
- 26) BODIS, J.:
Fälle von familiärer Methämoglobinämie aus zwei Sippen.
Ann. Paediat. 201, 455 (1963)
- 27) BROOKS, J.:
The oxidation of haemoglobin to methaemoglobin by oxygen.
Proc. Roy. Soc. 109, 35 (1932)
- 28) BROOKS, J.:
The oxidation of haemoglobin to methaemoglobin by oxygen II.
Proc. Roy. Soc. 118, 560 (1935)
- 29) BROOKS, J.:
The oxidation of haemoglobin to methaemoglobin by oxygen.
J. Physiol. 107, 332 (1948)
- 30) BÜCH, O.:
Massenvergiftung durch Natriumnitrit.
Arch. Toxikol. 14, 53 (1952)

- 31) CHAPMAN, R.G., M.A. HENNESSEY, A.M. WALTERSDORPH,
F.M. HUNNEKENS and B.W. GABRIO:
Erythrocyte metabolism. V. Levels of glycolytic
enzymes and regulation of glycolysis.
J. clin. Invest. 41, 1242 (1962)
- 32) COMLY, H.H.:
Cyanosis in infants caused by nitrates in well
water.
J. Amer. Med. Ass. 129, 112 (1945)
- 33) CONANT, J.B.:
An electrochemikal study of hemoglobin
J. Biol. Chem. 57, 401 (1923)
- 34) CORNBATH, M. and A.F. HARTMANN:
Methemoglobinemia in young infants
J. Pediat. 33, 421 (1948)
- 35) COX, W.W. und W.B. WENDEL:
The normal rate of reduction of methemoglobin
in Dogs.
J. Biol. Chem. 143, 331 (1942)
- 36) DARLING, R.C. and F.J.W. ROUGHTON:
The effect of methemoglobin on the equilibrium
between oxygen and hemoglobin.
Amer. J. Physiol. 137, 56 (1942)
- 37) DELFMANN, L.:
Tödliche Methämoglobinämie durch nitrathaltiges
Brunnenwasser.
Zbl. allg. Path. 100, 269 (1959)
- 38) DESFORGES, J.F.:
Glutathione instability in normal blood.
Blood, 20, 186 (1962)
- 39) DINE, M.S.:
Congenital methemoglobinemia in the newborn period.
Am. J. Dis. Child. 92, 15 (1956)
- 40) DITTRICH, P.:
Über methämoglobinbildende Gifte.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 29, 247 (1892)
- 41) EVELYN, K.H. und MALLOY, H.T.:
Microdetermination of oxyhemoglobin, methemoglobin
and sulfhemoglobin in a single sample of blood.
J. Biol. Chem. 126, 655 (1938)

- 42) FINCH, C.A.:
Methemoglobinemia and sulfhemoglobinemia.
New. Engl. J. Med. 239, 470 (1948)
- 43) GÄRTNER, CH.:
Methämoglobinreduktion und Diaphoraseaktivität
in Erythrocyten Erwachsener und Neugeborener.
Diss. Freiburg 1964
- 44) GELINSKI, G.:
Studien über Methämoglobinbildung. XIX. Mitt.:
Rückbildung des Methämoglobins bei verschiedenen
Tierarten.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 195, 460 (1940)
- 45) GIBSON, Q.H.:
The reduction of methemoglobin by ascorbic acid.
Brit. Biochem. J. 37, 615 (1943)
- 46) GIBSON, Q.H.:
The reduction of methemoglobin in red blood cells
and studies on the cause of idiopathic methemoglo-
binemia.
Brit. Biochem. J. 42, 13 (1948)
- 47) GUTMAN, H.R., B.J. JANDORF und O. BODANSKY:
The role of pyridine nucleotides in the reduction
of methemoglobin.
J. Biol. Chem. 169, 145 (1947)
- 48) HAVEMANN, R. und K. WOLFF:
Über das Redoxpotential Methämoglobin-Hämoglobin.
I. Mitt.
Biochem. Z. 293, 399 (1937)
- 49) HAVEMANN, R., JUNG, F. und B. ISSEKUTZ:
Die Bestimmung von Methämoglobin im Blute mit dem
lichtelektrischen Kolorimeter.
Biochem. Z. 301, 116 (1939)
- 50) HENNESSEY, M.A., A.M. WALTERDORPH, F.M. HUNNEKENS
und B.W. GABRIO:
Erythrocyte metabolism. VI. Separation of erythro-
cyte enzymes from hemoglobin.
J. clin. Invest. 41, 1257 (1962)
- 51) HEUBNER, W.:
Methämoglobinbildende Gifte.
Erg. Physiol. 43, 9 (1940)

- 52) HEUBNER, W., M. KIESE, M. STUHLMANN und W. SCHWARZ-KOPF-JUNG:
Der Hämoglobingehalt des normalen Blutes.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 204, 313 (1947)
- 53) HÖRLEIN, H. und G. WEBER:
Über chronische familiäre Methämoglobinämie und
eine neue Modifikation des Methämoglobins.
Dtsch. Med. Wschr. 73, 476 (1948)
- 54) HOPPE-SEYLER, F.:
Centralblatt med. Wiss. 53, (1864)
- 55) HUNNEKENS, E.M., L. LIN, H.A.P. MYERS and B.W. GABRIO:
Erythrocyte metabolism. III. Oxidation of glucose.
J. biol. Chem. 227, 253 (1957)
- 56) HUNNEKENS, F.M., R.W. CAFFREY, R.E. BESFORD
and B.W. GABRIO:
Erythrocyte metabolism. IV. Isolation and proper-
ties of methemoglobin reductase.
J. Biol. Chem. 227, 261 (1957)
- 57) JAFFE, E.R.:
The reduction of methemoglobin in human erythro-
cytes incubated with purine nucleosides.
J. clin. Invest. 38, 1555 (1959)
- 58) JUNG, F.:
Studien über Methämoglobinbildung. XIV. Mitt.:
Über die Rückbildung des Methämoglobins in Gegen-
wart von Alkohol.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 192, 464 (1939)
- 59) JUNG, F.:
Alter, hämolytische Resistenz und Methämoglobin-
gehalt der Erythrocyten.
Dtsch. Arch. klin. Med. 195, 454 (1949)
- 60) JUNG, F.:
Studien über Methämoglobinbildung. XVIII. Mitt.:
Der Kreislaufprozeß Phenylhydroxylamin-Nitroso-
benzol.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 195, 208 (1940)
- 61) JUNG, F., H. MATTHIES und K. ONNEN:
Über Stoffwechselleistungen von roten Blutkörper-
chen. II. Einfluß methämoglobinfreier Zellen auf
die Methämoglobinrückbildung.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 222, 474 (1954)

- 62) KIESE, M.:
Die Reduktion des Hämoglobins. IV. Mitt.: Die katalytische Wirkung einiger Farbstoffe auf die Reduktion des Hämoglobins in roten Zellen.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 204, 288 (1947)
- 63) KIESE, M.:
Die Reduktion des Hämoglobins. V. Mitt.: Beschleunigung durch Erhöhung der Milchsäurekonzentration des Blutes.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 204, 451 (1947)
- 64) KIESE, M.:
Die Reduktion des Hämoglobins. VI. Mitt.: Die von reversibel reduzierbaren Farbstoffen katalysierte Reduktion.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 207, 99 (1949)
- 65) KIESE, M.:
Die Bedeutung der Oxydation von Anilin zu Nitrosobenzol für die Hämoglobinbildung nach Aufnahme von Anilin in den Organismus.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 235, 360 (1959)
- 66) KIESE, M. und H. MENZEL:
Hämoglobinbildung im Blut des Menschen nach Einnahme von Phenacetin und N-Acetyl-p-aminophenol.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 242, 551 (1962)
- 67) KIESE, M. und W. SCHWARTZKOPF:
Die Reduktion des Hämoglobins. III. Mitt.: Reduktion des Hämoglobins und Stoffwechsel in roten Zellen.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 204, 267 (1947)
- 68) KIESE, M. und H.D. WALLER:
Kinetik der Hämoglobinbildung. VII. Mitt.: Stoffwechselvorgänge in roten Zellen bei der Hämoglobinbildung durch den Kreislaufprozeß Phenylhydroxylamin-Nitrosobenzol.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 211, 345 (1950)
- 69) KIESE, M. und B. WEISS:
Die Reduktion des Hämoglobins in den Erythrocyten verschiedener Tiere.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 202, 493 (1943)
- 70) KLEIHAUER, E.:
Untersuchungen zur Reduktion des Blutfarbstoffs durch Ascorbinsäure.
Pol. haematol. (Lpz.) 83, 187 (1965)

- 71) KLEIHAUER, E.:
Methode und Mechanismus des Nachweises von Methämoglobin in Erythrocyten eines Blutaussstrichs.
Klin. Wschr. 17, 853 (1964)
- 72) KLEIHAUER, E.:
Fetales Hämoglobin und fetale Erythrocyten.
Arch. Kinderhk. 53. Beiheft, Enke Verlag Stuttgart 1966
- 73) KLEIHAUER, E. und K. BETKE:
Beziehungen zwischen Geschwindigkeit der Methämoglobinrückbildung und Hämoglobingehalt roter Blutkörperchen.
Klin. Wschr. 34, 1292 (1956)
- 74) KLEIHAUER, E. und K. BETKE:
Elution procedure for the demonstration of methemoglobin in red cells of human blood smears.
Nature 199, 1196 (1963)
- 75) KÜNZER, W., E. AMBS und D. SCHNEIDER:
Zur Wirkung von Natriumnitrit auf Nabelschnurerythrocyten.
Klin. Wschr. 31, 617 (1953)
- 76) KÜNZER, W. und W. SAVELSBERG:
Der Hämiglobingehalt des Blutes.
Klin. Wschr. 29, 648 (1951)
- 77) KÜNZER, W. und D. SCHNEIDER:
Zur Aktivität der reduzierenden Fermentsysteme in den Erythrocyten junger Säuglinge.
Acta haematol. (Basel) 9, 346 (1953)
- 78) KÜNZER, W., A. SCHÜTZ und E. SCHÜTZ:
Vergleichende Untersuchungen der Spontanoxydation des Blutfarbstoffs in Nabelschnur- und Erwachsenenerythrocyten nach Glykolyse-Hemmung.
Acta haematol. (Basel) 16, 137 (1956)
- 79) LACHHEIN, L. und W. THAL:
Zur Methämoglobinrückbildung in vivo beim Menschen.
Fol. haemat. (Lpz.) 78, 340 (1961)
- 80) LACHHEIN, L., W. THAL und O. HARNACK:
Methämoglobinämie durch Brunnenwasser bei Säuglingen.
Dtsch. Ges. Wes. 15, 2291, 1139 (1960)
- 81) LACHHEIN, L. und B. NAUMANN:
Glykolyseraten methämoglobinhaltiger Erythrocyten von Erwachsenen und Neugeborenen.
Biologie der Lebensalter. Symposium Berlin 1952

- 82) LABORIT, H.:
Rôle probable du shunt de l'héxosemonophosphate
dans la protection contre la toxicité de l'oxygène.
La Presse Médicale Paris. 8, 441 (1964)
- 83) LEUTHARDT, F.:
Lehrbuch der Physiologischen Chemie.
14. Auflage, de Gruyter Berlin 1961
- 84) LEWIN, L.:
Die Wirkung des Phenylhydroxylamin. Ein weiterer
Beitrag zur Kenntnis der Blutgifte.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 35, 401 (1895)
- 85) LÖHR, H.:
Untersuchungen zur Physiologie und Pharmakologie
der Lunge.
Z. ges. exp. Med. 39, 121 (1924)
- 86) LÖHR, G.W. und H.D. WALLER:
Erythrocytenfermente: in Blutbildung und Blutum-
satz beim Feten und Neugeborenen. S. 190 Enke
Stuttgart 1962
- 87) MAAS, U.:
Fermentative Reduktion von intrazellulär erzeugtem
Methämoglobin bei Anwesenheit von Glucose, Galac-
tose oder Formaldehyd als Substrat in Erythrocyten
von Erwachsenen, Säuglingen, Neugeborenen und Pa-
tienten mit hypochromen Anämien.
Diss. Freiburg 1959
- 88) MARTI, H.R.:
Normale und anomale menschliche Hämoglobine.
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1963
- 89) McDONALD, C.D. and T.H.J. HUISMAN:
A comparative study of enzymatic activities in
normal adult and cord blood erythrocytes as rela-
ted to the reduction of methemoglobin.
Clin. Chem. Acta 7, 555 (1962)
- 90) MATTHIES, H.:
Über Stoffwechselleistungen von Blutkörperchen.
I. Mitt.: Kationentransport und Methämoglobin-
rückbildung.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 221, 497 (1954)
- 91) MATTHIES, H.:
Über Stoffwechselleistungen roter Blutkörperchen.
IV. Mitt.: Substratverarmung und Stoffwechselak-
tivität.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 226, 442 (1955)

- 92) MATTHIES, H.:
Methämoglobinrückbildung in Retikulocyten.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 229, 331 (1956)
- 93) MATTHIES, H., F. JUNG und K. ONNEN:
Über den Stoffwechsel jugendlicher Blutzellen.
Dtsch. Gesundheitswes. 8, 1562 (1953)
- 94) MATTHIES, H., F. JUNG und R. SCHÄFER:
Über Stoffwechselleistungen roter Blutkörperchen.
III. Mitt.: Zur Aufklärung des sogenannten Misch-
effekts bei der Methämoglobinrückbildung.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 225, 352 (1955)
- 95) MORRISON, D.B. und E.F. WILLIAMS jr.:
Methemoglobinreduction by glutathione or cysteine.
Am. Science 87, 15 (1937)
- 96) OSTER, D.:
Methämoglobinrückbildung in Erythrocyten von Er-
wachsenen, Säuglingen und Neugeborenen und ihre
Beziehung zum Gehalt an fetalem Blutfarbstoff.
Diss. Freiburg 1956
- 97) PRANKERD, T.A.J.:
The red cell. An account of its chemical physio-
logy and pathology.
Oxford: Blackwell Sci. Publ. 1961
- 98) RAUH, H.:
Über den Hämiglobingehalt des Blutes im Säuglings-
alter.
Diss. Freiburg 1954
- 99) REINBOLD, B. v.:
Beiträge zur Kenntnis des Methämoglobin.
Z. physiol. Chem. 85, 250 (1913)
- 100) RICHTERICH, R.:
Enzympathologie. Enzyme in Klinik und Forschung.
Springer Berlin-Göttingen-Heidelberg 1958
- 101) ROSS, J.B.:
Deficient activity of DPNH-dependent methemoglobin
diaphorase in cord blood erythrocytes.
Blood 21, 51 (1963)
- 102) ROSS, J.B. and J.F. DESFORGES:
Reduction of methemoglobin by erythrocytes from
cord blood. Further evidence of deficient enzyme
activity in the newborn period.
Pediatrics 23, 718 (1959)

- 103) ROSTORFER, H.H.:
Aerobic and anaerobic reduction of methemoglobin
in avian erythrocytes in vitro.
Amer. J. Physiol. 170, 648 (1952)
- 104) SATTELMACHER, P.G.:
Methämoglobinämie durch Nitrate im Trinkwasser.
Fischer Stuttgart 1962
- 105) SCHALL, H.:
Vergleichende Untersuchung über die Oxydation des
roten Blutfarbstoffs durch Natriumnitrit im Voll-
blut von Neugeborenen und Erwachsenen. Beitrag zur
Frage des Reaktionsablaufs und seiner Gesetzmäßig-
keiten.
Diss. Freiburg 1959
- 106) SCHWEDTKE, G.:
Studien über Methämoglobinbildung. VIII. Mitt.:
Zur Theorie der Methämoglobinbildung durch Anilin.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 188, 121 (1938)
- 107) SCHWEDTKE, G.:
Studien über Methämoglobinbildung. IX. Mitt.: Ein-
fluß des Alkohols auf die Methämoglobinbildung
durch Anilin.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 188, 130 (1938)
- 108) SCHWEDTKE, G. und LO-SING:
Studien über Methämoglobinbildung. X. Mitt.: Zur
Methämoglobinbildung durch Nitrobenzol.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 188, 138 (1938)
- 109) SAKURAI, K.:
Über die Rückbildung des Methämoglobins.
I. Mitt.: Versuche in vitro.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 107, 287 (1925)
- 110) SAKURAI, K.:
Über die Rückbildung des Methämoglobins.
II. Mitt.: Durchblutungsversuche.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 109, 198 (1925)
- 111) SAKURAI, K.:
Über die Rückbildung des Methämoglobins.
III. Mitt.: Versuche am lebenden Tier.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 109, 214 (1925)
- 112) SCOTT, E.M.:
The relation of diaphorase of human erythrocytes
to inheritance of methemoglobinemia.
J. Clin. Invest. 3, 1176 (1960)

- 113) SCOTT, E.M. and J.V. GRIFFITH:
The encymic defect of hereditary methemoglobine-
mia: diaphorase..
Biochem. Biophys. Acta 34, 584 (1959)
- 114) SCOTT, E.M., I.W. DUNCAN und V. EKSTRAND:
The reduced pyridine nucleotide dehydrogenase of
human erythrocytes.
J. Biol. Chem. 240, 481 (1965)
- 115) SCHWERD, W. und R. STUMPF:
Spectrometrische Untersuchungen über Nitrit-Met-
hämoglobin und Stickoxydhämoglobin.
Blut, 7, 341 (1961)
- 116) SCOTT, D.B., J.A. OWEN and J. RICHMOND:
Methemoglobinemia due to prilocaine
The Lancet, 7362, 72 (1964)
- 117) SIMON, C., H. MANZKE, H. KAY und G. MROWETZ:
Über Vorkommen, Pathogenese und Möglichkeiten zur
Prophylaxe der durch Nitrit verursachten Methämo-
globinämie.
Z. Kinderhk. 91, 124 (1964)
- 118) SINIOS, A.:
Methämoglobinämie durch nitrithaltigen Spinat.
Münch. Med. Wschr. 106, 1180 (1964)
- 119) SPICER, S.S., C.H. HANNA und A.M. CLARK:
Studies in vitro on methemoglobin reduction in
dog erythrocytes.
J. Biol. Chem. 177, 217 (1949)
- 120) SPICER, S.S. und H. REYNOLDS:
Individual and age variation in methemoglobin for-
mation and reduction in rabbit erythrocytes.
Amer. J. Physiol. 159, 47 (1949)
- 121) STAVE, V. und J. POHL:
Altersabhängige Veränderungen von Enzymen der
Glykolyse in Erythrocyten.
Z. Kinderhk. 83, 618 (1960)
- 122) THAL, W. und L. LACHHEIN:
Zur Methämoglobininrückbildung durch Ascorbinsäure.
Klin. Wschr. 39, 1022 (1961)
- 123) THAL, W., L. LACHHEIN und M. MARTINEK:
Welche Hämoglobinkonzentrationen sind bei Brunnen-
wasser-Methämoglobinämie noch mit dem Leben ver-
einbar?
Arch. Toxikol. 19, 25 (1961)

- 124) - TJOA, G.T.:
Untersuchungen über Heinzkörperbildung und Glutathioninstabilität in Erythrocyten von Neugeborenen.
Z. Kinderhk. 84, 484 (1960)
- 125) TOWNES, P.L. and M. MORRISON:
Investigation of the defect in a variant of hereditary methemoglobinemia.
Blood 19, 60 (1961)
- 126) WALLER, H.D. und G.W. LÖHR:
Beitrag zur idiopathischen Methämoglobinämie.
Folia haemat. (Lpz.) 78, 320 (1961)
- 127) WALLER, H.D., B. SCHLEGEL, A.A. MÜLLER und G.W. LÖHR:
Der Hämiglobingehalt in alternden Erythrocyten.
Klin. Wschr. 37, 898 (1959)
- 128) WARBURG, O. und W. CHRISTIAN:
Über die Aktivierung der Robinson'schen Hexose-Monophosphorsäure in roten Blutzellen und die Gewinnung aktivierender Fermentlösungen.
Biochem. Z. 242, 206 (1931)
- 129) WARBURG, O., F. KUBOWITZ und W. CHRISTIAN:
Kohlehydratverbrennung durch Methämoglobin. (Über den Mechanismus einer Methylenblaukatalyse).
Biochem. Z. 221, 494 (1930)
- 130) WARBURG, O., F. KUBOWITZ und W. CHRISTIAN:
Über die katalytische Wirkung von Methylenblau in lebenden Zellen.
Biochem. Z. 227, 245 (1930)
- 131) WARBURG, O., F. KUBOWITZ und W. CHRISTIAN:
Über die Wirkung von Phenylhydrazin und Phenylhydroxylamin auf den Stoffwechsel der roten Blutzellen.
Biochem. Z. 242, 170 (1931)
- 132) WENDEL, W.B.:
Oxidation of Lactic acid by dog erythrocytes.
Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 26, 865 (1929)
- 133) WENDEL, W.B.:
Induced oxidation in blood. Hemoglobin destruction by methylene blue in lactic acid peroxidation.
Proc. soc. exp. biol. med. 27, 624 (1930)

- 134) WENDEL, W.B.:
Oxidation of lactate by methemoglobin in erythrocytes with regeneration of hemoglobin.
Proc. soc. exp. biol. med. 28, 401 (1930)
- 135) WENDEL, W.B.:
Oxidations by erythrocytes and the catalatic influence of methylene blue.
J. biol. Chem. 102, 373 (1933)
- 136) WENDEL, W.B.:
Oxidation by erythrocytes and the catalatic influence of methylene blue. II. Methemoglobin and the effect of cyanide.
J. biol. Chem. 102, 385 (1933)
- 137) WENDEL, W.B.:
Catalytic reduction of methemoglobin to hemoglobin by methylene blue.
J. biol. Chem. 123, 74 (1938)
- 138) WERNER, U., W. THAL und W.D. WUTTKE:
Schwerste und letal verlaufende Methämoglobinämien durch nitritthaltiges Brunnenwasser bei jungen Säuglingen.
Dtsch. Med. Wschr. 90, 124 (1965)
- 139) ZEYNEK, R., von:
Über kristallisiertes Cyanhä moglobin.
Z. physiol. Chem. 33, 426 (1901)

LEBENS LAUF

=====

Am 14. Dezember 1939 wurde ich als zweiter Sohn des damaligen praktischen Arztes und heutigen Medizinaldirektors Dr. Walter Orywall und seiner Ehefrau Emmy, geborene Schepper, in Schwelm in Westfalen geboren. Ostern 1946 wurde ich eingeschult; ab 1950 besuchte ich das Humboldt-Gymnasium in Solingen, an dem ich 1959 die Reifeprüfung bestand.

Im Sommersemester 1959 begann ich das Studium der Medizin an der Universität zu Tübingen und legte hier im Herbst 1960 die naturwissenschaftliche Vorprüfung ab. 1961 wechselte ich zur Universität Köln, im Wintersemester 1961/62 zur Freien Universität Berlin und kehrte im Sommersemester 1962 wieder zur Universität Köln zurück, um hier das Physikum abzulegen. Nach einem weiteren Semester in Köln studierte ich die restlichen klinischen Semester wieder an der Universität zu Tübingen, wo ich im Sommer 1966 mein Studium mit dem Staatsexamen abschloß.

Druckbüro Frau Elly HUTH, 74 Tübingen